



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales Departamento de
Fisiología, Biología Molecular y Celular

Integración de señales de sombra y sequía en *Arabidopsis thaliana*

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la
Universidad de Buenos Aires en el área CIENCIAS
BIOLÓGICAS

Mariana Semmoloni

Director de Tesis: Dr. Jorge José Casal

Consejero de Estudios: Dr. Pablo Diego Cerdán

Lugar de trabajo: IFEVA, Facultad de Agronomía,
Universidad de Buenos Aires

Buenos Aires, 2020

Índice General

INDICE GENERAL	2
RESUMEN	4
ABSTRACT	5
AGRADECIMIENTOS.....	6
INDICE DE FIGURAS	8
INDICE DE ABREVIATURAS	10
INTRODUCCIÓN	11
INTRODUCCIÓN.....	12
SEÑALES LUMÍNICAS	13
SEÑALIZACIÓN DE LA RESPUESTA DE ESCAPE AL SOMBREADO	15
<i>Auxinas: síntesis, transporte y sensibilidad</i>	19
DISPONIBILIDAD HÍDRICA	21
<i>Señalización de estrés osmótico por déficit hídrico</i>	22
INTERACCIÓN ENTRE SEÑALES HÍDRICAS Y LUMÍNICAS.....	25
OBJETIVOS.....	28
MATERIALES Y MÉTODOS	29
DISEÑO EXPERIMENTAL	30
MATERIAL VEGETAL.....	31
TRATAMIENTOS DE RESTRICCIÓN HÍDRICA.....	34
<i>Restricción del riego</i>	34
<i>Agar de bajo potencial agua</i>	35
TRATAMIENTOS DE SOMBREADO	36
<i>Simulación de plantas vecinas con fuentes de luz rojo lejano lateral</i>	36
<i>Cultivo en distintas densidades de siembra</i>	36
<i>Simulación del sombreado natural con filtros de acetato verde</i>	37
MEDICIÓN DE LA LONGITUD DEL TALLO Y CÁLCULO DEL INCREMENTO DE LONGITUD DE PLANTAS DE TOMATE Y ARVEJA.....	38
MEDICIÓN DE LARGO Y CÁLCULO DE LA TASA DE ELONGACIÓN DEL HIPOCOTILO.....	38
MEDICIÓN DEL ÁREA DE COTILEDONES U HOJAS Y CÁLCULO DE LA TASA DE EXPANSIÓN	39
TRATAMIENTOS CON ABA	39
META-ANÁLISIS DE ENSAYOS DE MICROARREGLOS PUBLICADOS.....	40
TINCIÓN HISTOQUÍMICA DE ACTIVIDAD B-GLUCORONIDASA	41
ENSAYOS DE BIOLUMINISCENCIA.....	41
MICROSCOPIA CONFOCAL	42
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	43
DIAGRAMAS DE CAJAS Y BIGOTES.....	45
RESULTADOS	46
EL DÉFICIT HÍDRICO LIMITA LA RESPUESTA DE CRECIMIENTO EN SOMBREADO	47
INTERACCIONES ENTRE EL ABA Y LAS RESPUESTAS DE CRECIMIENTO A LA SOMBRA.....	49
MUTACIONES EN COMPONENTES CENTRALES DE LA RESPUESTA AL SOMBREADO LIMITAN LA RESPUESTA A LA DISPONIBILIDAD HÍDRICA.....	53
GENES CUYA EXPRESIÓN ES AFECTADA POR LA DISPONIBILIDAD HÍDRICA Y LA SOMBRA	54
LA DISPONIBILIDAD HÍDRICA MODULA LA EXPRESIÓN Y ACUMULACIÓN DE PIFs EN COTILEDONES	59

LA DISPONIBILIDAD HÍDRICA AFECTA LOS NIVELES DE SEÑALIZACIÓN DE AUXINAS EN EL HIPOCOTILO.....	66
LA DINÁMICA NUCLEAR DE PHYB ES INDEPENDIENTE DE LA DISPONIBILIDAD HÍDRICA.....	67
LA DISPONIBILIDAD HÍDRICA MODULA LA EXPRESIÓN Y ACUMULACIÓN DE PIFs EN EL HIPOCOTILO	68
LA DISPONIBILIDAD HÍDRICA NO AFECTA LA ABUNDANCIA NUCLEAR DE HY5	70
ARF6 EN LA RESPUESTA DE CRECIMIENTO	70
LA DISPONIBILIDAD HÍDRICA NO AFECTA LA ABUNDANCIA NUCLEAR DE ELF3	72
LA DISPONIBILIDAD HÍDRICA AFECTA LA ACUMULACIÓN NUCLEAR DE RGA	73
REGULACIÓN POSTRASCRIPTIVA DE PIF4 POR DISPONIBILIDAD HÍDRICA	74
<i>DISCUSIÓN</i>	77
LA SEQUÍA LIMITA LA RESPUESTA DE ELONGACIÓN POR SEÑALES DE PLANTAS VECINAS	78
LA SEQUÍA REDUCE LA EXPRESIÓN DE PIF3, PIF4 Y PIF5.....	78
LA SEQUÍA REPRIME LA ACUMULACIÓN DE LA PROTEINA PIF4 EN RESPUESTA A SOMBRA.....	79
LA SEQUÍA REPRIME LA EXPRESIÓN DE GENES DE RESPUESTA A SOMBRA REGULADOS POR PIF3, PIF4 Y PIF5.....	81
LA SEQUÍA REPRIME LA SEÑALIZACIÓN POR AUXINA EN EL HIPOCOTILO	81
LA SEQUÍA REDUCE EL IMPACTO DE PIF4 EN LA RESPUESTA DE ELONGACIÓN A SOMBRA.....	82
ROL DUAL DEL ABA EN EL CRECIMIENTO DEL HIPOCOTILO.....	83
MODELO DE CONDICIONAMIENTO DE LA RESPUESTA DE ELONGACIÓN POR SEQUÍA	84
<i>BIBLIOGRAFÍA</i>	86
<i>ANEXO</i>	99

Integración de señales de sombra y sequía en Arabidopsis thaliana

Resumen

Las plantas vecinas modifican el ambiente lumínico generando señales que son percibidas mayormente por los sensores foto-sensibles fitocromo B (phyB) y criptocromo 1 (cry1). La reducción en la actividad de phyB y cry1 gatilla una serie de cambios morfológicos, conocidos como respuesta de escape al sombreado, que en plántulas incluye la inhibición de la expansión de los cotiledones y la elongación del hipocotilo. El crecimiento celular que media estas respuestas depende del incremento en la señalización de auxina, inducido por los factores de transcripción PHYTOCHROME INTERACTING FACTORS 3, 4 y 5 (PIFs). La presencia de plantas vecinas también modifica variables ambientales determinantes del estado hídrico de las plantas. La transpiración de las plantas es la principal causa de pérdida de contenido hídrico en estratos medios de los suelos. La arquitectura del canopeo condiciona el impacto del viento y modifica los valores de temperatura y humedad. A pesar de la interrelación entre señales de sombreado vegetal y disponibilidad de agua, se desconoce el grado de integración de estas señales en las respuestas de escape al sombreado. El objetivo de este trabajo fue investigar los efectos del déficit hídrico sobre la respuesta de crecimiento en el contexto de escape al sombreado y su señalización. Los resultados obtenidos indican que el déficit hídrico atenúa la respuesta de crecimiento en sombra mediante efectos específicos sobre ciertos componentes de su vía de señalización, aguas abajo de PHYB, y sobre componentes centrales del reloj biológico. En cotiledones, el déficit hídrico redujo la expresión de genes marcadores de respuesta a sombra, y de PIF3, PIF4 y PIF5. En los pecíolos de los cotiledones, el déficit hídrico inhibió la expresión de PIN3, implicado en el transporte polar de auxinas desde los cotiledones hacia el hipocotilo. En el hipocotilo el déficit hídrico limitó el incremento en los niveles de auxina en sombra y reprimió la expresión y abundancia de PIF4. Se encontraron evidencias favorables a un rol de BRASSINOSTEROID INSENSITIVE 2 (BIN2) y de PLANT PROTEIN KINASE 1-4 (PPK1-4) en la regulación postranscripcional de PIF4 por déficit hídrico en células del hipocotilo. El análisis abordado en esta tesis aporta a la comprensión de los mecanismos de integración de señales que permiten un ajuste adecuado del crecimiento a condiciones ambientales complejas, como las que experimentan las plantas a campo.

Palabras clave: sombra, sequía, phyB, PIF, auxina, BIN2, PPK, elongación del hipocotilo.

Integration of shade and drought cues in Arabidopsis thaliana

Abstract

Neighboring vegetation modifies the light environment, producing shade signals mainly perceived by the photo-sensory receptors phytochrome B (phyB) and cryptochrome 1 (cry1). Such signals reduce phyB and cry1 activity, triggering morphological changes of the plant body, known as shade avoidance responses. In seedlings, these responses include the inhibition of cotyledon expansion and the promotion of hypocotyl elongation. The enhanced growth of the hypocotyl is mainly mediated by elevated signaling of the growth hormone auxin, induced by the transcription factors PHYTOCHROME INTERACTING FACTORS (PIFs) 3, 4 and 5. Neighboring vegetation also modifies environmental parameters that determine plant water balance. Plant transpiration is the main cause of water loss from soil top and middle layers. Canopy architecture limits wind impact and modifies temperature and humidity values. Despite inter-relationship between shade and water availability, the degree of integration of these cues on growth responses remains poorly understood. The aim of this work was to study water shortage effects on the growth response induced by neighboring plants. The results suggest that the limitation of water availability attenuates the growth response by directly and specifically affecting certain components of the shade avoidance signaling, downstream of PHYB. In the cotyledons, water deficit reduced the expression of shade marker genes and *PIF4*. In the petioles of the cotyledons, water deficit reduced *PIN3* expression, probably limiting auxin polar transport. In hypocotyl cells, water deficit limited expression and protein accumulation of PIF4 in response to shade. BRASSINOSTEROID INSENSITIVE 2 (BIN2) and PROTEIN KINASE 1-4 (PPK1-4) likely mediated postranscriptional effects on PIF4. The results provide insight into the molecular mechanism of signal integration that allows proper adjustment of growth responses to the complex environmental conditions that plants experience in the field.

Keywords: shade, drought, phyB, PIF, auxin, BIN2, PPK, hypocotyl growth.

Agradecimientos

A Jorge Casal, por creer tanto en este proyecto, por la mirada desprejuiciada para interpretar y re-pensar resultados inesperados, por el optimismo constante.

Al IFEVA, por alojarme durante estos años de formación profesional y aprendizaje personal.

A Jorge y Santiago, de mi CST, por las preguntas constructivas y los buenos consejos que me dieron cuando quizás mas lo necesité.

A todes mis compañeros del labo grande, les del principio y les del final, por hacer del lugar de trabajo un espacio alegre y rico en Grupo 6, por los mates, las kermés y, por qué no, también por algunos enojitos eventuales. Agradezco a todes les que alguna vez me pusieron cajitas en luz, regaron mis plantas, me prestaron wells en su corrida o calles de su gel, me compartieron semillas y más favores. A Eze y Gabi por facilitarme cumplir mi sueño de conocer sobre el mundo crossfit, además de ayudarme a sembrar y a mover las peceras. A Dani por las charlas después de hora. A Eze, Mer y Belén, por estar siempre del otro lado de la mesada dispuestas a escuchar cómo iban mis experimentos.

A mis compañeros de FIL, por recibirme siempre con buena predisposición (a veces hasta con comida!) y prestarme sus cámaras, tips y pipetas. Por acompañarme virtualmente en el final de la tesis. A Ceci, por todos los mediodías de confo.

A Juan, especialmente por ayudarme a preparar el seminario. Sigo debiendo la pastafrola.

A Romi, por hacer las veces de traductora, intérprete y mediadora; por prestarme su oficina, las placas de luminómetro, la lupa, por estar siempre en momentos de crisis.

A Mile, por sus visitas energizantes, por los chistes constantes y las comidas excepcionales.

A Manu, que me enseñó casi todo y me advirtió con tiempo.

A mis amigas del lab, por el apoyo, las catarsis, las risas, las videollamadas. Por inspirarme a buscar caminos nuevos. A Orne y Tai por la sabiduría. A Vicky por la frescura. A Ely, por estar siempre dispuesta a ayudar, por las extracciones, las siembras, los cafés y las meriendas.

A Maite, por ser mi compi de cuaren-tesis, por las conversaciones de whatsapp, por estar siempre disponible para mis consultas, por todo el tiempo que compartimos pero especialmente los últimos meses.

A Sofi, mi álder ego científico y mi hueva compañera, por compartirme sus carpetas, programas, modelos de notas... Por estar siempre presente.

A Edith, por el interés genuino en mi trabajo.

A mis padres por darme todo.

A mis hermanos, por creer en mí y hacer las preguntas justas. A Caro por la calidez y la complicidad, por conocerme tanto.

A Esteban, por la incondicionalidad, por creer que puedo todo, por estar siempre preparado para festejar mis logros y para reconfortarme si algo sale mal. Por acompañarme siempre pero especialmente en los altibajos de un final de tesis que se extendió hasta fundirse en cuarentena, y encima hacerlo divertido.

Indice de Figuras

FIGURA I.1. ESPECTRO DE IRRADIANCIA DE LUZ SOLAR Y LUZ BAJO UN CANOPEO VEGETAL, Y RANGO DE ACCIÓN DE LOS RECEPTORES FOTO-SENSORIALES IMPLICADOS EN LA PERCEPCIÓN DE SEÑALES DE PLANTAS VECINAS. ...	14
FIGURA I.2. VÍA CENTRAL DE SEÑALIZACIÓN DE LA RESPUESTA DE ESCAPE AL SOMBREADO.	16
FIGURA M.1. ESQUEMA GENERAL DEL DISEÑO EXPERIMENTAL SEGUIDO EN ESTA TESIS.	30
FIGURA M.2 - IRRADIANCIA PAR Y R:RL EN LOS TRATAMIENTOS CONTROL Y DE SOMBRA SIMULADA CON FUENTES DE LUZ RL LATERAL (+RL).	36
FIGURA M.3. IRRADIANCIA PAR Y R:RL EN LOS TRATAMIENTOS COMBINADOS DE RESTRICCIÓN HÍDRICA Y DENSIDAD DE SIEMBRA.	37
FIGURA M.4. ESPECTRO DE IRRADIANCIA LUMÍNICA EN CONDICIONES CONTROL (LUZ BLANCA) Y DE SOMBRA SIMULADA CON UN FILTRO DE ACETATO VERDE.	38
FIGURA R.1 - LA DISPONIBILIDAD HÍDRICA LIMITA LA RESPUESTA DE CRECIMIENTO A BAJAS R:RL EN <i>S. LYCOPERSICUM</i> Y <i>P. SATIVUM</i>	47
FIGURA R.2 - LA DISPONIBILIDAD HÍDRICA LIMITA LA RESPUESTA A DENSIDADES DE SIEMBRA EN PLANTAS DE TOMATE Y EN PLÁNTULAS DE <i>A. THALIANA</i>	48
FIGURA R.3 - LA DISPONIBILIDAD HÍDRICA LIMITA LA RESPUESTA DE CRECIMIENTO A SOMBRA SIMULADA.	49
FIGURA R.4 – EL ABA INHIBE LA RESPUESTA A SOMBRA, PERO MUTANTES EN LA SÍNTESIS DE ABA FALLAN EN LA RESPUESTA A SOMBRA.	51
FIGURA R.5 – MUTANTES DE LA VÍA DEL ABA FALLAN EN LA RESPUESTA A SOMBRA, Y RETIENEN LA RESPUESTA A DISPONIBILIDAD HÍDRICA.	52
FIGURA R.6 – MUTACIONES EN PIF ₃ , PIF ₄ Y PIF ₅ AFECTAN LA RESPUESTA A DÉFICIT HÍDRICO EN SOMBRA.	53
FIGURA R.7 - ANÁLISIS GENÉTICO DEL IMPACTO DEL DÉFICIT HÍDRICO SOBRE EL EFECTO DE LAS SEÑALES DE SOMBRA EN LA RESPUESTA DE CRECIMIENTO DEL HIPOCOTILO.	54
FIGURA R.8 – LA ACTIVIDAD DEL PROMOTOR PIN ₃ DEPENDE DE LA DISPONIBILIDAD HÍDRICA.	56
FIGURA R.9 – LA DISPONIBILIDAD HÍDRICA AFECTA LA ACTIVIDAD DEL PROMOTOR AUX ₁	57
FIGURA R.10 - RESPUESTA DE CRECIMIENTO EN MUTANTES PARA GENES FLA.	58
FIGURA R.11 – LA DISPONIBILIDAD HÍDRICA LIMITA LA ACTIVIDAD DE ALGUNOS PROMOTORES DE GENES MARCADORES DE RESPUESTA A SOMBRA.	59
FIGURA R.12 – LA DISPONIBILIDAD HÍDRICA AFECTA LA ACTIVIDAD DE PROMOTORES PIF ₃ , PIF ₄ Y PIF ₅ EN COTILEDONES.	60
FIGURA R.13 - LA DISPONIBILIDAD HÍDRICA AFECTA LOS PERFILES DE ACTIVIDAD DEL PROMOTOR Y DE ACUMULACIÓN PROTEICA DE PIF ₄	61
FIGURA R.14 – LA DISPONIBILIDAD HÍDRICA AFECTA LA DINÁMICA MOLECULAR DE ELF ₃	63
FIGURA R.15 - EL DÉFICIT HÍDRICO AFECTA LA RESPUESTA DE EXPANSIÓN DE COTILEDONES.	64
FIGURA R.16 – LA DISPONIBILIDAD HÍDRICA AFECTA LA ACTIVIDAD DE LOS PROMOTORES CCA ₁ Y LHY.	65
FIGURA R.17 – LA DISPONIBILIDAD HÍDRICA AFECTA LA ABUNDANCIA DE HFR ₁	66
FIGURA R.18 - EL DÉFICIT HÍDRICO AFECTARÍA LOS NIVELES DE AUXINAS.	67
FIGURA R.19 - EL DÉFICIT HÍDRICO NO AFECTA LA DINÁMICA DE PHYB.	67
FIGURA R.20 – LA DISPONIBILIDAD HÍDRICA AFECTA LA ACTIVIDAD DE LOS PROMOTORES PIF ₃ , PIF ₄ Y PIF ₅ EN EL HIPOCOTILO.	69
FIGURA R.21 - LA DISPONIBILIDAD AFECTA LOS NIVELES NUCLEARES DE PIF ₄ EN RESPUESTA AL SOMBREADO.	69
FIGURA R.22 – LA DISPONIBILIDAD HÍDRICA NO AFECTA LA ABUNDANCIA NUCLEAR DE HY ₅	70
FIGURA R.23 - RESPUESTA DE CRECIMIENTO EN LOS MUTANTES ARF ₆ , ARF ₆ ARF ₇ Y ARF ₆ ARF ₈	71
FIGURA R.24 - LA DISPONIBILIDAD HÍDRICA MODULA LOS NIVELES DE ARF ₆ EN SOMBRA.	71
FIGURA R.25 - LA DISPONIBILIDAD HÍDRICA NO AFECTA LA ABUNDANCIA DE ELF ₃	72
FIGURA R.26 - LA DISPONIBILIDAD HÍDRICA LIMITA EL IMPACTO DE LA SOMBRA EN LOS NIVELES DE RGA.	73
FIGURA R.27 – EL MUTANTE RGA- Δ 17 NO LIMITA EL IMPACTO DEL DÉFICIT HÍDRICO EN LA RESPUESTA A SOMBRA. ...	74
FIGURA R.28 – BIN ₂ Y PPK ₁₋₄ PARTICIPAN EN LA REGULACIÓN POSTTRANSCRIPCIONAL DE PIF ₄ POR DÉFICIT HÍDRICO.	75

FIGURA R.29 - EL MUTANTE <i>BIN2</i> ANULA EL EFECTO DEL DÉFICIT HÍDRICO SOBRE LA RESPUESTA DE CRECIMIENTO A SOMBRA.....	72
FIGURA S.1. TASA DE ELONGACIÓN DEL HIPOCOTILO EN FUNCIÓN DEL LARGO INICIAL DEL HIPOCOTILO.	112

Indice de Abreviaturas

ABA.....	Ácido abscísico
ADN.....	Ácido desoxirribonucleico
BR.....	Brasinoesteroides
EC.....	<i>Evening Complex</i>
IAA.....	Ácido indolacético
IAF.....	Índice de área foliar
GA.....	Giberelina
GO.....	Ontologías génicas
PAR.....	Radiación fotosintéticamente activa
R.....	Rojo
RL.....	Rojo lejano

Introducción

Introducción

La luz y el agua son recursos esenciales para las plantas. La primera provee la energía necesaria para la fotosíntesis y constituye una fuente de información ambiental que es percibida e integrada por las plantas para el ajuste plástico de su crecimiento y desarrollo a las condiciones ambientales (de Wit et al., 2016). La segunda constituye la fuente de electrones para la fotosíntesis, permite la captación de nutrientes y la distribución de mensajeros y foto-asimilados, posibilita la refrigeración y genera la presión de turgencia celular que impulsa el crecimiento (Scharwies & Dinneny, 2019).

Una de las respuestas de crecimiento moduladas por señales del ambiente lumínico más estudiadas es la de escape al sombreado de plantas vecinas. En ambientes no controlados la competencia por la luz se da dentro de un rango amplio de disponibilidad hídrica, determinada por características de la población vegetal y por variables ambientales (régimen de lluvias, propiedades del suelo, etc.). La co-ocurrencia de déficit lumínico por densidad de plantas vecinas y escasez hídrica es habitual en distintos sistemas de cultivo y ecológicos (Abbas et al., 2019; Asghar et al., 2019; Holmgren et al., 2012; Pardos & Calama, 2017; Reisman-Berman & Kadmon, 2017; Sack & Grubb, 2002). Los modelos de cambio climático predicen un incremento en la frecuencia y severidad de eventos de sequía (Trenberth et al., 2014), especialmente en zonas áridas y semi-áridas, que afectarán a cultivos y poblaciones naturales.

El estudio de las respuestas a plantas vecinas y su señalización se ha abordado mayormente en condiciones controladas, donde sólo se modifica la señal lumínica a valores constantes de las demás variables ambientales. Esta aproximación permitió conocer los mecanismos de percepción y las vías de señalización que regulan el patrón de crecimiento en respuesta a las señales de plantas vecinas. Un objetivo actual en el estudio de estas respuestas es conocer cómo se configuran sus vías de señalización en ambientes naturales. El nivel de integración de las señales lumínicas con las de disponibilidad de agua no es claro, pues no ha sido estudiado en detalle. En particular, esta tesis se centró en los efectos de la disponibilidad hídrica en niveles óptimos y sub-óptimos sobre la respuesta de escape al sombreado, y en identificar los componentes de la vía de transducción de señales de plantas vecinas que dependen del estado hídrico. Esta información permitirá comprender los mecanismos que median el ajuste plástico de la fisiología y morfología de las plantas a condiciones complejas.

Señales lumínicas

Las plantas perciben cambios en la calidad (composición en distintas longitudes de onda), cantidad (irradiancia), duración (fotoperíodo) y dirección del estímulo lumínico, y utilizan esta información para adecuar su crecimiento y morfología a las condiciones ambientales. La percepción de estas señales lumínicas mediante distintos receptores foto-sensoriales permiten a las plantas detectar situaciones ecológicas tan variadas como la posición con respecto a la superficie del suelo durante la germinación, la presencia de plantas vecinas y la llegada de la estación climática favorable para la inducción floral, (Casal, Luccioni, Oliverio, & Boccalandro, 2003; de Wit et al., 2016; Fiorucci & Fankhauser, 2017). La actividad de los receptores foto-sensoriales regula vías de señalización que integran y coordinan la información lumínica con modificaciones en el transcriptoma y la actividad de proteínas específicas. Estos mecanismos regulan los cambios a nivel morfológico y fisiológico que constituyen respuestas adaptativas específicas a las condiciones ambientales (Casal, 2013; de Wit et al., 2016; Fiorucci & Fankhauser, 2017; Franklin, 2008; Neff et al., 2000).

Las plantas superiores poseen cinco familias de receptores foto-sensoriales, especializados en el sensado de distintos rangos del espectro lumínico (Figura I1 B) (Paik & Huq, 2019). En su mayoría, los receptores foto-sensoriales son cromoproteínas, compuestas por una apoproteína y un cromóforo excitable por radiación de longitud de onda determinada. Como excepción, UVR8 no une un cromóforo sino que presenta una serie de residuos triptófano responsables de la absorción lumínica. La excitación de los residuos Trp o del cromóforo produce un re-arreglo conformacional en la apoproteína que modifica su actividad (Möglich et al., 2010). UVR8 absorbe radiación UV-B. Los criptocromos (*cry1* y *cry2* en *A. thaliana*), las fototropinas (*phot1* y *phot2*) y Zeirlupes (*zlp*, *fkf1* y *lkp2*) unen FAD (flavin-adenin-dinucleótido) y FMN (flavina mononucleótido) como cromóforo, respectivamente, y absorben luz en el rango del azul y UV-A. Los fitocromos (*phyA-E*) unen fitocromobilina como cromóforo y absorben en el R y RL. Distintas respuestas a señales del ambiente lumínico son reguladas por la acción conjunta, aunque con diferente contribución relativa, de distintos receptores foto-sensoriales (Paik & Huq, 2019).

La luz solar que incide en las plantas presenta baja irradiancia en el rango del UV (280-400 nm), cantidades intermedias de radiación en el rango del azul (400-500 nm) y cantidades mayores y aproximadamente equivalentes de radiación en el rango del verde (500-600 nm), rojo (600-700 nm, R) y rojo lejano (700-800 nm, RL) (Figura I1) (Smith,

1982). Las plantas absorben luz en el rango del UV y de la radiación fotosintéticamente activa (400-700 nm, PAR por sus siglas en inglés), especialmente en las longitudes de onda correspondientes al azul y al R, mientras que transmiten y reflejan radiación en el rango del verde y, más fuertemente, en el rango del RL. De este modo, la reflexión de RL por plantas cercanas disminuye la relación entre irradiancia R y RL (R:RL) que las vecinas perciben lateralmente sin afectar la cantidad de luz que reciben en el rango del UV y PAR. La caída en R:RL funciona como señal temprana de presencia de plantas vecinas que podrían implicar una competencia futura por el recurso lumínico (Ballaré et al., 1987). Cuando las plantas se encuentran más cercanas entre sí y a medida que aumenta la densidad de cobertura foliar, las hojas de los estratos superiores filtran la luz solar de modo que en las capas medias e inferiores del canopy disminuye progresivamente la irradiancia PAR a la vez que hay un enriquecimiento relativo en RL (Figura I1) (Casal, 2013; Fiorucci & Fankhauser, 2017; Martínez-García et al., 2010). La caída progresiva en la irradiancia PAR y en la R:RL son indicadores de la densidad de sombreado corriente por plantas vecinas. En especies no tolerantes al sombreado, estas señales de sombra futura o corriente inducen respuestas morfológicas, en conjunto conocidas como "respuestas de escape al sombreado", orientadas a sobrepasar a las competidoras y captar luz solar directa en las hojas. Estas respuestas incluyen la elongación de tallos y pecíolos, la inclinación de las hojas hacia una posición más erguida (hiponastia) y el incremento de la dominancia apical (Casal, 2012; Fiorucci & Fankhauser, 2017; Franklin, 2008; Roig-Villanova & Martínez-García, 2016). La intensidad de las respuestas de elongación aumenta progresivamente con las densidades de siembra.

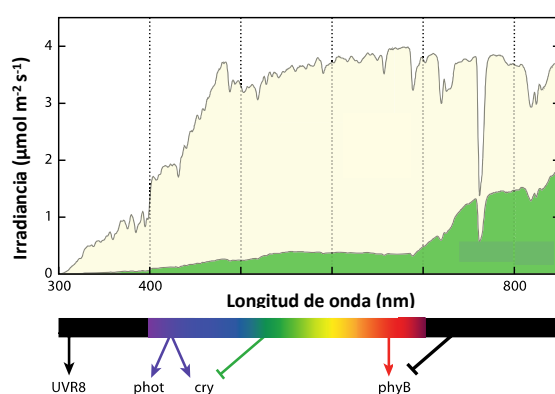


Figura I.1. Espectro de irradiancia de luz solar (en amarillo claro) y luz bajo un canopy vegetal (en verde), y rango de acción de los receptores foto-sensoriales implicados en la percepción de señales de plantas vecinas. Adaptado de Casal, 2013.

Señalización de la respuesta de escape al sombreado

En *A. thaliana*, el fitocromo B (phyB) es el receptor foto-sensorial más importante en la regulación de la respuesta de crecimiento por señales de plantas vecinas. phyB tiene dos formas interconvertibles con espectros de absorción parcialmente solapados, una forma Pr que presenta un máximo de absorción en los 660 nm (R), y una forma Pfr con un máximo de absorción en los 730 nm (RL). Las moléculas de phyB forman dímeros, donde cada monómero puede encontrarse en la forma Pr o Pfr, siendo el dímero Pfr-Pfr la forma biológicamente activa. La proporción de la forma activa Pfr-Pfr aumenta con la R:RL, lo cual convierte a phyB en un buen sensor de señales de plantas vecinas (Casal, 2013; Fiorucci & Fankhauser, 2017; Legris et al., 2019). Además, la forma Pfr revierte en una reacción dependiente de temperatura (reversión térmica) a la forma Pr (Jung et al., 2016; Legris et al., 2016), de modo que en condiciones más cálidas se requiere mayor irradiancia para mantener una determinada proporción de Pfr. Es decir, phyB también funciona como sensor de temperatura.

Frente a señales de plantas vecinas, la disminución en la proporción de Pfr de phyB desencadena las respuestas de escape al sombreado. La vía de acción de phyB en estas respuestas consta de dos sub-redes principales (Figura I2). Por un lado, phyB reprime la actividad y estabilidad de un grupo de factores de transcripción de tipo bHLH PHYTOCHROME INTERACTING FACTORS (PIFs), que son reguladores centrales en la promoción del crecimiento del hipocotilo por señales de sombra. En una segunda vía, phyB reprime la actividad de la E3 ligasa de ubiquitina CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENESIS 1 (COP1), que marca para degradación proteosomal a reguladores negativos de la respuesta de elongación (Casal, 2013; Fiorucci & Fankhauser, 2017). La vía de PIFs es parcialmente dependiente de la vía de COP1, ya que factores regulados negativamente por COP1 son a su vez moduladores negativos de la actividad de ciertos PIFs (Figura I2; Pacín et al., 2016).

La familia de los PIFs tiene 8 miembros en *A. thaliana*. PIF3, PIF4, PIF5 y PIF7 regulan la respuesta de elongación del hipocotilo mediante actividades parcialmente solapadas (Pham et al., 2017; Roig-Villanova & Martínez-García, 2016). En luz plena, phyB promueve la fosforilación de PIF3, PIF4, PIF5 y PIF7 (Leivar et al., 2008; Li et al., 2012). Esto deriva en ubiquitinación y degradación por el proteosoma 26S de PIF3, PIF4 y PIF5 (Al-Sady et al., 2004; Shen et al., 2007), y promueve la interacción de PIF7 con proteínas 14-3-3 que median su exportación y retención citoplasmática (Huang et al., 2018). Las quinasas y complejos ubiquitin-ligasa que median esta regulación en la señalización por plantas

vecinas no han sido identificadas. Se conocen distintas quinasas y complejos E3 ligasa de ubiquitina que actúan sobre algunos miembros de la familia PIF (Bernardo-García et al., 2014; Bu et al., 2011; Dong et al., 2017; Ling et al., 2017; Ni et al., 2017, 2015; Shi et al., 2016; Zhang et al., 2017), pero no se ha evaluado su rol en el control de la actividad y abundancia de los PIFs en el contexto de la señalización por plantas vecinas.

La caída en la R:RL en sombra desplaza la foto-conversión de phyB hacia su forma Pr. Esto conduce a una rápida re-localización nuclear de COP1 (Pacín et al., 2013) y a una rápida estabilización en la acumulación nuclear de PIF3, PIF4 y PIF5 (Lorrain et al., 2008; Pucciarello et al., 2018) y re-importación nuclear de PIF7 (Huang et al., 2018). Los PIFs promueven la elongación del hipocótilo por crecimiento celular, principalmente mediante la activación transcripcional de genes de síntesis y señalización de auxinas (Casal, 2013). A grandes rasgos, la actividad de los PIFs conduce a una mayor expresión de genes de síntesis de auxina y un incremento en los niveles de auxina, que induce la degradación de los represores transcripcionales AUX/IAA (Iglesias et al. 2018; Khonen et al., 2016; Procko et al., 2014; Pucciarello et al., 2018, Tao et al., 2008). Esto libera la actividad de los factores de transcripción *AUXIN RESPONSE FACTORS* (ARFs), que promueven la expresión de genes que regulan positivamente la expansión celular.

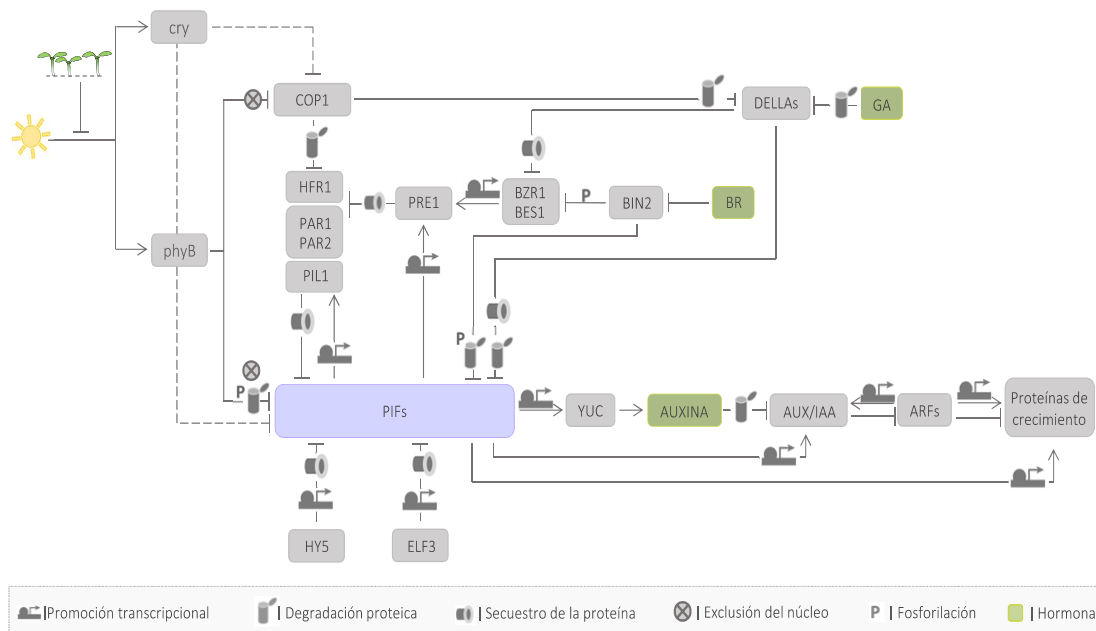


Figura 1.2. Vía central de señalización de la respuesta de escape al sombreado.

Componentes y mecanismos regulatorios principales en la señalización que modula la respuesta de crecimiento por señales de plantas vecinas. En verde se indican las hormonas que participan en esta vía. Adaptado de Casal, 2013.

En paralelo a la vía de auxinas, los PIFs promueven directamente, mediante el pegado a su promotor, la expresión de genes relacionados a la modificación de la pared celular que

son necesarios para la respuesta de crecimiento por señales de sombra (“proteínas de crecimiento” en el esquema de la Figura 12) (Casal, 2013; Fiorucci & Fankhauser, 2017).

Los PIFs también inducen la expresión de reguladores negativos, como *LONG HYPOCOTYL IN FAR-RED 1 (HFR1)*, *PHYTOCHROME RAPIDLY REGULATED 1 (PAR1)*, *PAR2* y *PIF3-LIKE 1 (PIL1/PIF2)* (Figura 12) (Devlin et al., 2006; Hornitschek et al., 2012; Hornitschek et al., 2009). La expresión de estos genes suelen utilizarse como marcador molecular de respuesta a sombreado debido a su fuerte y rápida inducción por señales de plantas vecinas. PIL1 reprime la actividad de PIF4, PIF5 y PIF7 mediante la interacción y formación de heterodímeros no funcionales con estos factores, impidiendo su pegado al ADN (L. Li et al., 2014). PIL1 puede actuar como regulador positivo o negativo de la respuesta de elongación del hipocotilo (Casal, 2013; Wang et al., 2020). PAR1 y PAR2 interactúan con PIF4 impidiendo su pegado al ADN. COP1 marcaría a PAR1 y PAR2 para degradación (Kim et al., 2017). HFR1 también impide la actividad de PIF4 y PIF5 mediante la formación de heterodímeros no funcionales. En sombra, PIF4 y PIF5 promueven la expresión de *HFR1* y COP1 reprime la acumulación la proteína, de modo que la abundancia de HFR1 en sombra es menor que en luz blanca (Pacín et al., 2016). De este modo se configuran *loops* de retro-alimentación negativa que impedirían la actividad excesiva de los PIFs.

Las DELLAs (*GAI*, *RGA*, *RGL1*, *RGL2* y *RGL3*), en particular *GAI* y *RGA*, modulan la actividad de PIF3, PIF4 y PIF5 mediante interacción directa, impidiendo su pegado al ADN (de Lucas et al., 2008; Feng et al., 2008), y conduciendo a su degradación (Li et al., 2016). Esta regulación es importante en el control del patrón diario de crecimiento del hipocotilo. Las señales de plantas vecinas promueven rápidamente la degradación de *RGA* (y probablemente también de *GAI*) mediante la regulación directa por COP1 (Blanco-Touriñán et al., 2020). A tiempos mayores, las señales de sombra promueven la síntesis de Giberelinas (GA), que reforzaría la degradación de las proteínas DELLAS mediante una vía diferente a la de COP1. La desestabilización de las DELLAs en sombra libera la actividad de los PIFs (Casal, 2013; Wang et al., 2020; Blanco-Touriñán et al., 2020).

Además de la regulación por auxinas y GA, la señalización por brasinoesteroides (BR) también modula la respuesta de elongación del hipocotilo por señales de plantas vecinas. No se ha detectado un incremento en los niveles de BR en sombra aunque mutantes deficientes en la síntesis de BR o el bloqueo farmacológico de la síntesis de BR limitan la respuesta a plantas vecinas (Casal, 2013; Wang et al., 2020). La expresión de un gran número de genes relacionados a la señalización y respuesta a BR es promovida en sombra (Casal, 2013; Fiorucci & Fankhauser, 2017). La señalización por BR conduce a la

defosforilación y activación de BRASSINAZOLE RESISTANT 1 (BZR1) y BRI1-EMS-SUPPRESSOR 1 (BES1), factores de transcripción de tipo bHLH que promueven respuestas de crecimiento. BZR1 promueve la expresión de *PRE1*, un represor de HFR1 y PAR1. BZR1 y PIF4 heterodimerizan formando un complejo que se une a regiones promotoras de genes que co-regulan, relacionados a la síntesis y señalización de auxinas y remodelado de la pared celular (de Lucas & Prat, 2014; Oh, Zhu, & Wang, 2012). BRASSINOSTEROID INSENSITIVE 2 (BIN2) es un conocido represor de BES1 y BZR1. La actividad de BIN2 es reprimida por la señalización de BR, pero no ha sido evaluada específicamente en el contexto de la señalización por plantas vecinas. BIN2 también fosforila a PIF3, PIF4 y PIF5 marcándolos para degradación en el control del patrón diario de crecimiento del hipocotilo (Bernardo-garcía et al. 2014). Las DELLAs interactúan con BZR1 y BES1 e impiden su unión al ADN. phyB interactúa con las formas de-fosforiladas de BZR1 y BES1 promoviendo su degradación (Dong et al., 2019; Wu et al., 2019).

ELONGATED HYPOCOTYL 5 (HY5) es un factor de transcripción de tipo bZIP que actúa en forma antagónica a los PIFs, reprimiendo la respuesta de elongación (Ciolfi et al., 2013; Ortiz-alcaide et al., 2019; Roig-Villanova et al., 2006). HY5 promueve la expresión reguladores negativos de la vía de señalización de auxinas (Cluis, Mouchel, and Hardtke 2004), promueve la actividad de BIN2 (Jian Li et al., 2020) y reprime la expresión de PIF4 (Delker et al., 2014). Además, HY5 reprime la actividad de PIF4 mediante interacción directa que impide su pegado al ADN, y mediante la competencia por la unión a sitios regulatorios en regiones promotoras de genes regulados por ambos factores en la señalización por temperatura ambiental (Gangappa & Kumar, 2017; Toledo-ortiz et al., 2014). En el contexto de respuesta a plantas vecinas, la represión por HY5 es importante para frenar la elongación del hipocotilo en transiciones desde sombra hacia luz solar directa que reproducen condiciones de sombreado fluctuante típicas de ambientes naturales (Sellaro et al., 2011).

EARLY FLOWERING 3 (ELF3) participa en el control del período del reloj biológico y de la floración en respuesta a señales de plantas vecinas (Jiménez-Gómez et al., 2010). ELF3 reprime el crecimiento del hipocotilo mediante la interacción proteína-proteína con PIF4 y PIF7 impidiendo su pegado al ADN, (Nieto et al., 2015; Jiang et al., 2019). Además, ELF3 es un represor de la expresión de *PIF4* y *PIF5* (Nusinov et al., 2011). ELF3 también forma parte del "*Evening complex*" (*E.C.*), un complejo proteico que regula la expresión de genes centrales del reloj circadiano y participa en el control de la expresión rítmica de *PIF4* y *PIF5* modulando el patrón de crecimiento periódico del hipocotilo.

UVR8, fototropinas y criptocromos también participan en la regulación de algunas de estas respuestas (Fiorucci & Fankhauser, 2017). Las fototropinas perciben de gradientes horizontales dentro del canopeo, orientando el crecimiento hacia las zonas más favorables (Fiorucci & Fankhauser, 2017). La actividad de los cry responde a la irradiancia azul y a la relación azul/verde, y el análisis fenotípico de los mutantes indica que funcionan como reguladores negativos de respuestas de escape al sombreado como elongación del hipocotilo, crecimiento de los pecíolos e hiponastia (Keller et al., 2011; Sellaro et al., 2010). En condiciones de alta luz azul, cry1 inhibe la actividad de COP1. La disminución de la actividad de cry1 en sombra libera a COP1 de esta represión (Liu et al., 2011). El análisis genético indica que cry1 y cry2 actúan en el control de la respuesta de elongación por bajas irradiancias de azul río arriba de PIF4 y PIF5. Cry1 y cry2 interactúan con PIF4 y PIF5, y se asocian a regiones genómicas en común con PIF4 y PIF5, posiblemente modulando su actividad (Pedmale et al., 2016; Ma et al., 2016).

Los PIFs también regulan otros procesos. En particular, PIF4 ha sido implicado en el control de la elongación del hipocótilo por temperatura, desarrollo estomático en respuesta a la cantidad de luz y a temperaturas cálidas (Casson et al., 2009; Lau et al., 2018), *gating* del reloj circadiano (Lee & Thomashow, 2012), degradación de clorofila y senescencia foliar en oscuridad (Sakuraba et al., 2014b; Song et al., 2014), y biosíntesis de antocianinas en luz R (Liu et al., 2015). Asimismo, la transcripción, acumulación proteica y actividad de PIF4 es regulada por parámetros del reloj circadiano, por temperatura y por señalización hormonal además de por señales del ambiente lumínico. El estrés salino también impacta en la actividad de PIF4 y PIF5 (Hayes et al., 2019). Actualmente se postula a PIF4 como un regulador central y pleiotrópico del crecimiento que integra información compleja en el control del crecimiento del hipocótilo (Paik et al., 2017).

Auxinas: síntesis, transporte y sensibilidad

El ácido indol-3-acético (IAA) es sintetizado a partir de Trp en una vía principal catalizada por las enzimas TAA1 y YUCCA (YUC), siendo esta última la que cataliza el paso limitante (Won et al., 2011). PIF4, PIF5 y PIF7 promueven la expresión de cuatro de los 11 genes *YUC* (*YUC2*, *YUC5*, *YUC8*, *YUC9*) en *A. thaliana* (Hornitschek et al., 2012; Kohonen et al., 2016; L. Li et al., 2012). La inducción de estos genes se da en tiempos de respuesta muy cortos en los cotiledones, el principal órgano en la percepción de señales de plantas vecinas y síntesis de IAA (Kohonen et al., 2016; Iglesias et al., 2018). Esto conduce a un incremento rápido y transitorio en el contenido de IAA en los cotiledones (Fiorucci &

Fankhauser, 2017; Pucciariello et al., 2018). A nivel del hipocotilo algunos genes *YUC* son inducidos con cierto retraso mientras que otros no son inducidos (Iglesias et al., 2018). Las auxinas son movilizadas desde los cotiledones hacia el hipocotilo por transporte polar basipetalo mediado por los transportadores de eflujo de la familia PIN. Señales de bajo R:RL inducen la expresión de *PIN3*, *PIN4* y *PIN7* y la re-localización de PIN3 desde la pared basal a la pared lateral de las células de la endodermis del hipocotilo, dirigiendo el flujo de IAA hacia la epidermis (Fiorucci & Fankhauser, 2017; Küpers et al., 2018).

Las auxinas son percibidas por receptores de la familia TIR1/AFB que forman parte de un complejo E3 ligasa de Ub basado en SKP1 CULLIN-FBOX (SCF). La unión de auxina a TIR1 promueve la actividad del complejo SKP1^{TIR1/AFB} que reconoce a las AUX/IAA marcándolas para degradación proteosomal. A concentraciones basales de auxinas, los ARFs se unen a la cromatina en forma de heterodímero con proteínas AUX/IAA que reclutan complejos de acetilasa de histona, impidiendo la transcripción (Szemenyei et al., 2013).

En *A. thaliana* hay 23 genes ARFs (Salehin et al., 2015). En particular, ARF6 forma parte del módulo regulatorio "BAP" junto a PIF4 y BZR1, y ARF6 y ARF8 pueden actuar como co-activadores de PIF4 (Oh et al., 2014). El efecto de ARF6, 7 y 8 sobre la respuesta del crecimiento es aditivo y varía con las condiciones lumínicas y tiempo de crecimiento (Pucciariello et al., 2018; Reed et al., 2018). Los ARFs actúan como promotores o represores de la transcripción según se asocien al ADN en forma de complejos con otras proteínas ARFs (promoción) o con proteínas AUX/IAA (represión) (Salehin et al., 2015). En respuestas rápidas a sombreado, el incremento en el contenido de auxina estimula la degradación de las AUX/IAA y, consecuentemente, la formación de complejos ARFs promotores de la transcripción. Los ARFs promueven mayormente la expresión de genes de percepción y respuesta a auxinas y de remodelación de la pared celular como expansinas, miembros de la familia XTH y β -glucanasas ("proteínas de crecimiento" en el esquema de la Figura 12) (Iglesias et al., 2018). En las células de la epidermis del hipocotilo, las auxinas también inducen la expresión de *SAUR19*, que promueve la actividad de la H⁺-ATPasa de membrana plasmática. Esto conduce a la relajación de la pared celular por acidificación del apoplasto y a la activación de enzimas remodeladoras de la pared celular. En última instancia estos mecanismos derivan en la elongación del hipocotilo por crecimiento celular (Küpers et al., 2018). En tiempos de respuestas más largos, el contenido de auxina se estabiliza en niveles basales (Pucciariello et al., 2018) y los ARFs reclutan nuevamente a las IAAs (cuya expresión es promovida por PIF4), derivando en la represión de la transcripción.

La síntesis de auxinas en los cotiledones no explica completamente la respuesta de elongación del hipocotilo por señales de plantas vecinas, sino que dicha respuesta también requiere de mecanismos de señalización locales en el hipocotilo (Fiorucci & Fankhauser, 2017; Küpers et al., 2018). Las señales de sombra aumentan la sensibilidad a auxina en el hipocotilo (Pucciariello et al., 2018), e inducen la expresión de genes marcadores de respuesta a plantas vecinas en el hipocotilo independientemente de la señalización derivada de los cotiledones (Iglesias et al., 2018; Küpers et al., 2018).

Disponibilidad hídrica

La escasez de agua es uno de los principales limitantes del crecimiento de las plantas en ambientes naturales. Altera la ecología y estructura de comunidades naturales (Brodrribb et al., 2020), y compromete el rendimiento de los cultivos (Gupta, 2020). En términos agronómicos, la sequía se relaciona a la escasez de agua en las capas medias y superiores del suelo o sustrato (rizósfera) que no alcanza a cubrir la demanda de las plantas, afectando su estado hídrico. A nivel celular, la sequía genera pérdida de agua en el protoplasto y las paredes celulares, que derivan en estrés hiperosmótico y disminución de la turgencia del protoplasto (Verslues et al., 2006; Zhu, 2002). Otras condiciones ambientales que limitan la disponibilidad de agua generado estrés osmótico, y por lo tanto comparten ciertas vías generales de señalización con sequía, son la salinidad y las temperaturas congelantes. Estas condiciones tienen otros componentes estresantes (toxicidad en estrés salino y daño celular por cristales de hielo en temperaturas congelantes), lo que las diferencia de la sequía (Verslues et al., 2006).

La sequía varía en severidad, frecuencia y duración en el tiempo, y en función de ello afecta distintos procesos fisiológicos y del desarrollo de las plantas, o la viabilidad de cultivos y poblaciones naturales (Gupta, 2020; Passioura, 2007). La germinación, el establecimiento de las plántulas, el crecimiento vegetativo, la floración, la producción de semillas y su vigor son limitados por sequía (Zhu, 2016). En condiciones de sequía se restringe la expansión y la división celular, impactando en el crecimiento de los tejidos (Skirycz et al., 2010; Skirycz & Inze, 2010). La tasa de crecimiento celular depende de la extensibilidad de la pared celular y de la presión de turgencia del protoplasto (Cosgrove et al., 1993). En general, el déficit hídrico ocasiona una rápida disminución en la tasa de crecimiento celular cuando el estrés es moderado, o el arresto cuando el estrés es severo (Taiz y Zeiger 2002), independientemente de la tasa fotosintética, aunque esto varía con el tejido analizado y su estado de desarrollo (Skirycz et al., 2010). La extensibilidad de la

pared celular se encuentra bajo regulación dinámica, y en ciertos tejidos y estadios de desarrollo el ablandamiento de la pared celular permite mantener el crecimiento en condiciones de estrés hídrico moderado, cuando la presión de turgencia celular no es tan alta (Feng et al., 2016). En hojas de *A. thaliana*, condiciones de estrés osmótico moderado limitan el crecimiento celular en primordios foliares y hojas maduras, pero no en hojas en expansión, que muestran respuestas de ablandamiento de la pared celular (Skirycz et al., 2010). En maíz, la tasa de elongación de la raíz puede incrementar en condiciones de estrés hídrico moderado (Sharp & Davies, 1979). Cuando el estrés es más severo, las células de la porción apical de la raíz continúan expandiéndose, y esto correlaciona con el incremento en la expresión y abundancia proteica de ciertas expansinas en estas células (Sharp et al., 1988; Wu et al., 1996; Wu et al., 2001).

En la escala de la planta entera, el estrés hídrico gatilla el cierre estomático, disminuyendo la pérdida de agua por transpiración (Scharwies & Dinneny, 2019). Como contraparte, esto limita el intercambio gaseoso, pudiendo impactar en la tasa de fotosíntesis. El déficit hídrico afecta el crecimiento de los órganos aéreos, especialmente la expansión foliar. La incorporación de nutrientes también es limitada por estrés hídrico (Farooq et al., 2009; Scharwies & Dinneny, 2019). En conjunto, esto afecta a la producción y partición de fotoasimilados.

Señalización de estrés osmótico por déficit hídrico

Los mecanismos y vías de sensado de disponibilidad hídrica en las plantas son mayormente desconocidos (Feng et al., 2016; Lamers et al., 2020; Scharwies & Dinneny, 2019; Zhu, 2016). La señal de estrés primaria generada por sequía es el estrés osmótico (Zhu, 2002; Zhu, 2016), y se postula que la disponibilidad hídrica se sensaría como potencial osmótico mediante osmosensores (Feng et al., 2016; Lamers et al., 2020). Las señales de estrés secundarias de sequía se relacionan al estrés oxidativo, daño de las membranas celulares y disfunción metabólica (Zhu, 2002; Zhu, 2016). En condiciones más severas de restricción hídrica la deformación de la pared celular y su disociación de la membrana plasmática es sensada por receptores quinasa de la membrana plasmática (RECEPTOR-LIKE KINASES; RLKs), que actúan como sensores de la integridad de la pared (Feng et al., 2016; Lamers et al., 2020).

El sensado de disponibilidad hídrica en el suelo se iniciaría en la raíz (Gupta, 2020). Cuando la disponibilidad hídrica es insuficiente, se inician respuestas sistémicas a déficit hídrico. La señalización desde la raíz hacia la parte aérea mediante mensajeros químicos

y señales hidráulicas permite la transmisión de la información ambiental desde el tejido de sensado hacia tejidos blanco que ejecutan respuestas específicas a las condiciones hídricas (Huber & Bauerle, 2016; Scharwies & Dinneny, 2019; Tardieu, 2016; Todaka et al., 2019). Entre otras respuestas, estas señales inducen la síntesis de ABA, incrementando sus niveles y promoviendo el cierre de los estomas (Bauer et al., 2013; Takahashi et al., 2018). El ABA también regula el crecimiento de la raíz y la parte aérea, promueve la expresión de genes de tolerancia a estrés osmótico como enzimas de síntesis de Prolina y de azúcares, chaperoninas que median el ensamble de la RuBisCo y enzimas anti-oxidantes, y regularía la conductancia hidráulica de los haces vasculares de las hojas independientemente de la regulación del cierre estomático, además de regular respuestas de crecimiento y desarrollo independientes al estrés osmótico (Dejonghe & Cutler, 2019; Kuromori et al., 2018; Verslues, 2016).

Biosíntesis de ABA

La regulación de las vías y procesos controlados por ABA se da mayormente a nivel de su síntesis *de novo* a partir de zeaxantina (Finkelstein & Rock, 2002). El primer paso es catalizado por ABA DEFICIENT 1/Zeaxantina EPOXIDASE (ABA1/ZEP). El sobre-expresante de *ABA1* presenta niveles aumentados de ABA y mayor tolerancia a estrés osmótico que el genotipo salvaje (Park et al., 2008). Las 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenases (NCEDs) catalizan un paso intermedio y limitante en la biosíntesis de ABA (Yanlin Ma et al., 2018). En *A. thaliana*, se han identificado 5 *NCEDs*. En particular, NCED3 es la principal enzima en la síntesis de ABA en respuesta a déficit hídrico (Endo et al., 2008; Tan et al., 2003). La expresión y abundancia de NCED3 son inducidas rápidamente por estrés osmótico (Behnam et al., 2013; Iuchi et al., 2001; Takahashi et al., 2018; Tan et al., 2003), promoviendo el incremento en los niveles endógenos de ABA. La enzima ABA DEFICIENT 2 (ABA2) cataliza el anteúltimo paso de la síntesis de ABA. En *A. thaliana*, el mutante pérdida de función *aba2-1* presenta bajos contenido de ABA y limitada respuesta de acumulación de ABA a estrés osmótico (González-guzmán et al., 2002). El paso final es catalizado por la enzima ABA-aldehyde oxidase 3 (AOO3).

Vía de señalización de ABA

La vía central de sensado y señalización de ABA consta de tres pasos regulatorios que involucran a un complejo holoreceptor soluble (PYR/PYL/RCAR-PP2C), proteínas quinasas como componentes intermediarios de la señalización (SNRK2s), y factores de transcripción como blancos finales. El complejo receptor es heteromérico, consta de un

receptor que une ABA de las familias PYRABACTIN RESISTANT/PYRABACTIN RESISTANT-LIKE/REGULATORY COMPONENT OF ABA RECEPTOR (PYR/PYL/RCAR), y un co-receptor que pertenece al clado A de la familia PROTEIN PHOSPHATASE 2C (PP2C). En *A. thaliana*, la familia de los PYR/PYL/RCAR consta de 14 miembros, y el clado A de PP2Cs consta de 9 miembros. Diferentes complejos ABA-PYR/PYL/RCAR-PP2C permiten una sensibilidad de respuesta en un rango amplio de concentraciones de ABA, desde niveles basales hasta los niveles elevados que se inducen por estrés osmótico (Tischer et al., 2017; Yoshida et al., 2019). A bajas concentraciones de ABA, las PP2C interactúan con SNF1-RELATED KINASE 2 (SnRK2s) reprimiendo su actividad por defosforilación. La unión de ABA a PYR/PYL/RCAR induce su interacción con PP2C (Cutler et al., 2010). Esto reprime la actividad de PP2C, liberando la actividad de las SnRK2s. En *A. thaliana* hay 10 SnRK2s, 5 de ellas (SnRK2.2/3/6/7/8) son activadas por ABA (Boudsocq et al., 2004). SnRK2.2/3/6 son las principales en el control de la cascada de señalización, promueven la actividad de factores de transcripción de tipo bZIP ABRE BINDING PROTEINS/ABRE BINDING FACTORS y ABA INSENSITIVE 5 (AREBs/ABFs/ABI5), que se unen a elementos regulatorios de respuesta a ABA (ABA RESPONSE ELEMENT, ABRE) en los promotores de sus genes blanco, relacionados con respuestas a estrés osmótico.

La vía SnRK2s-AREBs/ABFs/ABI5 es la principal en la regulación de respuestas a estrés osmótico mediadas por ABA. Independientemente de la vía de SnRK2s, el ABA modula la actividad de quinasas tipo Casein Kinase 2 (CK2) y activa la vía MITOGEN ACTIVATED PROTEIN KINASE KINASE KINASE 17 y 18 (MAP3K17/18)-MITOGEN ACTIVATED PROTEIN KINASE KINASE 3 (MKK3)-MITOGEN ACTIVATED PROTEIN KINASE 1/2/7/14 (MPK1/2/7/14) que controlan respuestas de apertura y cierre estomático, desarrollo de estomas, respuestas de senescencia y desarrollo de la raíz (Todaka et al., 2019; Vilela et al., 2015; Zelicourt et al., 2016).

La intensidad de los cambios transcripcionales inducidos por restricción hídrica varían diariamente, indicando una regulación circadiana del impacto del déficit hídrico en el control transcripcional (Wilkins et al., 2010). La amplitud en la oscilación diaria de la expresión de *TOC1* y *LHY* es levemente afectada por déficit hídrico moderado (Dubois et al., 2017). Asimismo, la señalización por ABA modula la amplitud y el patrón diario de expresión de *TOC1*. El tratamiento con ABA exógeno induce la expresión de *TOC1*, y la intensidad de la inducción depende del momento del día en que se aplica el tratamiento (*gating* del reloj circadiano). A su vez, *TOC1* reprime la expresión de *ABA-BINDING PROTEIN (ABAR)*, relacionada a la vía de señalización por ABA. *ABAR* es necesario para

la promoción de la expresión de *TOC1* por ABA, configurando un mecanismo de regulación recíproca (Legnaioli et al., 2009).

Señalización independiente de ABA

El incremento en los niveles de ABA tiene un rol central en la coordinación de respuestas de tolerancia a déficit hídrico, pero además existen cascadas de señalización independientes de ABA. De los 10 miembros de la familia SnRK2 en *A. thaliana*, 9 son activadas por estrés osmótico independientemente de la vía del ABA mediante mecanismos desconocidos (Boudsocq et al., 2004; Zhu, 2016). Asimismo, la actividad de factores de transcripción importantes en respuestas a estrés osmótico como *DREB2A* y de tipo *NAC* es promovida por estrés osmótico independientemente del ABA. Las vías dependientes e independientes de ABA regulan coordinadamente la reprogramación transcripcional que modula las respuestas a sequía (Todaka et al., 2019). Respuestas de tolerancia a déficit hídrico como cierre estomático, acumulación de compuestos osmo-compatibles y mecanismos anti-estrés oxidativo dependen de cascadas de señalización reguladas por Ca^{2+} y H_2O_2 además de por ABA (Farooq et al., 2009).

Interacción entre señales hídricas y lumínicas

En ambientes naturales, las señales de plantas vecinas se dan a valores fluctuantes de las demás variables ambientales. La co-ocurrencia de estrés hídrico y déficit lumínico por densidad de plantas vecinas es habitual en distintos sistemas de cultivo y ecológicos (Abbas et al., 2019; Asghar et al., 2019; Holmgren et al., 2012; Pardos & Calama, 2017; Reisman-Berman & Kadmon, 2017; Sack & Grubb, 2002). La disponibilidad hídrica en el suelo es mayormente determinada por las propiedades del sustrato y por parámetros climáticos como régimen de precipitaciones y demanda atmosférica. El incremento en la temperatura global ha aumentado la demanda evaporativa atmosférica que, además de afectar la fisiología de las plantas, incrementa la tasa de pérdida de agua de los suelos (Grossiord et al., 2020). En muchas zonas, el patrón de precipitaciones cambia hacia eventos de lluvias intensas separados temporalmente por eventos de sequía más largos, esto deriva en mayor escurrimiento del agua de lluvia hacia estratos profundos de los suelos, difícilmente disponible. En base a estos efectos, los modelos de cambio climático predicen un incremento en la frecuencia y severidad de eventos de sequía (Trenberth et al., 2014), especialmente en zonas áridas y semi-áridas. De este modo, cultivos y poblaciones naturales pueden experimentar abruptamente condiciones de déficit hídrico. El estado hídrico de las plantas también fluctúa diariamente, pudiendo atravesar

situaciones de óptima y escasa disponibilidad hídrica a lo largo de un mismo día cuando la demanda atmosférica es alta (Tardieu et al., 2018). En estos escenarios, poblaciones vegetales como las de plantas en cultivo experimentarán sombreado por plantas vecinas combinado con un deterioro de la disponibilidad hídrica.

Antecedentes de estudios eco-fisiológicos indican que los patrones de respuestas a condiciones combinadas de sombra y déficit hídrico no son tan predecibles, dependen de la interacción entre tratamientos y varían según el carácter analizado (Quero et al., 2006) o la intensidad de las señales (Hagiwara et al., 2010; Holmgren et al., 2012; Reisman-Berman & Kadmon, 2017). Para algunas respuestas los resultados muestran un proceso de facilitación de la sombra al desempeño de las plantas en déficit hídrico, mientras que en otros se observa un “*trade-off*” entre respuestas a déficit hídrico y respuestas a sombra.

No se ha evaluado la interacción entre las condiciones hídricas y lumínicas a nivel de las vías de señalización que regulan respuestas de crecimiento. Algunos componentes de la vía de señalización y respuesta a sombreado son afectados por estrés osmótico. Se ha reportado cierto nivel de regulación de proteínas PIF y PIL (PIF-Like proteins) por señales de sequía en arroz y maíz. En *O. sativa*, señales de luz promueven la expresión de *OsPIL1*, ortólogo de *AtPIF4*, *AtPIF5* y *AtPIF3* (Nakamura et al., 2007), que regula positivamente la elongación de entrenudos. El déficit hídrico inhibe la expresión de *OsPIL1* antagonizando los efectos de las señales de luz (D. Todaka et al., 2012). Tratamientos de estrés osmótico y con ABA inducen la expresión de *ZmPIF1* y *ZmPIF3*, ortólogos de *AtPIF3*, que participan en la regulación de respuestas a sequía (Gao et al., 2015; Gao et al., 2018 plant biotechnology journal). En plantas de 3 semanas de *A. thaliana* tratamientos de riego restringido reprimen la expresión de *PIF4* (Kudo et al., 2019). Distintos antecedentes indican que la expresión de *PIF4* permanecería inalterada (Hayes et al., 2019), sería reprimida (Franciosini, Rymen, Shibata, Favero, & Sugimoto, 2017) o promovida (Sakuraba et al., 2017) en estrés salino. La biosíntesis de GA es limitada en condiciones de déficit hídrico, y esto se relaciona con la promoción de los niveles de DELLAs (Hong-ie Chen, Li, & Yang, 2019). El estrés salino induce la acumulación transitoria de RGA en raíces (Achard et al., 2006; Geng et al., 2013). Condiciones de estrés osmótico y tratamientos de agregado de ABA exógeno estabilizan la actividad de BIN2 (Jiang et al., 2019; Nolan et al., 2017). Componentes centrales del reloj que regulan directa o indirectamente la expresión de genes *PIFs* también son afectados por estrés osmótico. Se desconoce cómo se configuran estos mecanismos y su posible impacto en el contexto de la respuesta a

plantas vecinas, donde los componentes mencionados tienen roles regulatorios importantes. Una posibilidad es que funcionen como puntos de integración de señales de plantas vecinas y disponibilidad hídrica. En esta tesis se evaluó el efecto de la disponibilidad hídrica sobre componentes centrales de la vía de transducción de señales de plantas vecinas y el impacto de esa regulación sobre la respuesta de elongación. Al inicio de este trabajo, no se había estudiado el efecto del estrés osmótico en la respuesta de escape al sombreado. Durante su desarrollo se reportó que el estrés salino reprime la respuesta de escape al sombreado inhibiendo la actividad de PIF4 y PIF5 mediante la señalización por ABA, que promueve la actividad de las quinasas BIN2, BIL1 y BIL2 (Hayes et al., 2019).

Objetivos

El objetivo general de esta tesis fue entender el funcionamiento de la vía de señalización que regula la respuesta de crecimiento por señales de plantas vecinas en condiciones de déficit hídrico moderado, simulando un aspecto de las condiciones ambientales complejas que suceden en ambientes no controlados.

El primer objetivo específico fue conocer el patrón de crecimiento en respuesta a las condiciones hídricas y lumínicas con adecuada resolución temporal. El impacto del déficit hídrico en la respuesta de crecimiento podría ser independiente o no de la condición lumínica. Este primer análisis fue necesario para establecer la posible convergencia entre las señales derivadas de las condiciones hídricas y lumínicas en el control de la respuesta de crecimiento. El análisis fisiológico permitió definir las condiciones experimentales para el análisis posterior.

El segundo objetivo específico fue establecer el impacto del déficit hídrico en componentes centrales en la señalización de la respuesta de escape al sombreado, e identificar posibles vías o mecanismos que expliquen el patrón de respuesta observado. Para ello, se realizaron análisis genéticos con mutantes de estos componentes, y se caracterizó su dinámica molecular (actividad del promotor y abundancia proteica mediante líneas reporteras) en las condiciones experimentales definidas en el primer objetivo. Esto permitió evaluar la relación causal entre las condiciones hídricas y lumínicas y los cambios en distintos componentes, y entre ellos y la respuesta de crecimiento.

Materiales y métodos

Diseño experimental

Para estudiar los efectos del déficit hídrico sobre la respuesta de escape al sombreado y su señalización, se estableció un diseño experimental básico utilizado en todos los experimentos de esta tesis. Inicialmente, las plantas crecieron en condiciones control de luz blanca y buena disponibilidad hídrica. Luego, la mitad de ellas fue expuesta a condiciones de déficit hídrico y la mitad permaneció en condiciones control. Finalmente, la mitad de las plantas del grupo control y la mitad del grupo tratado con baja disponibilidad hídrica fueron sometidas a tratamientos de sombreado natural o simulado, mientras que la otra mitad de cada grupo permaneció en condiciones control de luz blanca (Figura M1).

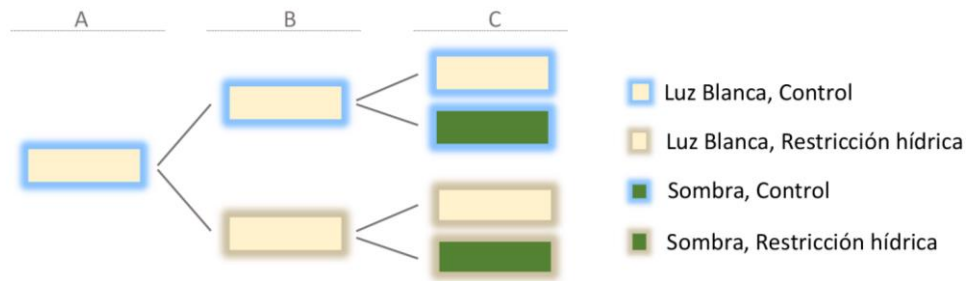


Figura M.3. Esquema general del diseño experimental seguido en esta tesis.

(A) Crecimiento inicial en condiciones control. Este período fue de 2 d para *A. thaliana* y de 7 días para tomate y arveja. (B) Tratamiento de déficit hídrico. La mitad de las plantas fue asignada al tratamiento de déficit hídrico, y la mitad permaneció en condiciones control. Este paso fue de 1 d en *A. thaliana*, donde las plantas fueron traspasadas a cajas de bajo potencial agua. En los ensayos con plantas de tomate y arveja en maceta, el tratamiento de déficit hídrico se realizó por restricción del riego hasta alcanzar el 30% de capacidad de campo, condición lograda luego de 10 - 11 d sin riego. (C) Crecimiento en sombra natural o simulada. Este período fue de 1 ó 5 días en ensayos con plantas de *A. thaliana* y de 1-7 días en ensayos con plantas de tomate y arveja.

Este orden secuencial de tratamientos no es trivial. El diseño experimental empleado aseguró que las señales de sombreado se den sobre plantas en condiciones de estrés hídrico establecidas, que no hubiese sido posible si se aplicaran los tratamientos de disponibilidad hídrica y lumínicos al mismo tiempo. De este modo fue posible estudiar los efectos del déficit hídrico sobre la respuesta a sombreado por plantas vecinas y su vía de señalización, cumpliendo los objetivos propuestos.

El paso inicial de crecimiento en condiciones control de luz y disponibilidad hídrica (Figura M1, A) fue de 2 días para plántulas de *A. thaliana*. En los ensayos con plantas de tomate y arveja la fase inicial se prolongó hasta que desarrollaron el primer par de hojas verdaderas. A continuación, fueron asignadas a los tratamientos control y de déficit hídrico (Figura M1, B). En los ensayos con *A. thaliana*, se usó agar de bajo potencial hídrico para generar condiciones de déficit hídrico, y en los ensayos con plantas de

tomate y arveja en maceta se controló el riego para manipular la disponibilidad de agua. Finalmente la mitad de las plantas de cada grupo fue asignado a los tratamientos lumínicos control (Luz Blanca) y de sombreado (Figura M1, C). La duración de los tratamientos de sombra varió entre 1 y 7 días según el experimento. En los ensayos con *A. thaliana* se manipuló la densidad de siembra para generar sombreado natural o se emplearon filtros de acetato verde para simular señales de sombreado. En los ensayos con plantas de tomate o arveja se manipuló la densidad de siembra generando sombreado natural de distintas intensidades, o se agregó una fuente de luz rojo lejano lateral (+RL), simulando señales de plantas vecinas que ocurren en cultivos en hilera.

Material Vegetal

Se usaron plantas de *Arabidopsis thaliana* como principal modelo experimental. Alternativamente, se emplearon plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*, variedad Money Maker) y arveja (*Pisum sativum*, cultivar Viper) como modelos de cultivos estival e invernal de interés agronómico.

En todos los casos, las semillas de *A. thaliana* fueron sembradas en cajas plásticas transparentes chicas (4·3,5·2 cm³) o medianas (8·4,5·2 cm³) en papel de filtro, sobre agar agua 0,8% ó MS 0,5X y estratificadas (4 °C, oscuridad) por 5 días. Luego, crecieron por 2 días en condiciones de luz blanca (PAR=100 μmol·m⁻²·s⁻¹, 400-700 nm) provista por una combinación de lámparas halógenas y fluorescentes (R:RL= 1,1), en una cámara de crecimiento a 22 °C con fotoperíodo de 10 h. Los tratamientos experimentales que siguieron se detallan en secciones siguientes.

Las semillas de tomate y arveja fueron sembradas en cajas plásticas transparentes (20·10·4 cm³), sobre papel de filtro y algodón humedecido con agua destilada. Las semillas de tomate se pusieron a germinar a 25 °C en oscuridad, las de arveja se colocaron a 22 °C en luz blanca. Cuando la radícula alcanzó un largo de 1-2 cm, las plántulas fueron trasplantadas a macetas plásticas de 330 cm³ con un sustrato de composición 2 perlita : 1 vermiculita : 1 turba, regadas con fertilizante Hakaphos Rojo 1X (Compo Expert), y transferidas a un invernáculo con iluminación natural y control de temperatura. Las plantas crecieron en estas condiciones hasta el desarrollo del primer par de hojas. Los tratamientos experimentales posteriores se detallan en las secciones siguientes.

Líneas de *A. thaliana* usadas:

– Líneas en fondo *col-0*

<i>aba2-1</i>	(González-guzmán et al., 2002)
<i>nced3-2</i>	(Reddy et al., 2013)
<i>abi5</i>	SALK 3163C
<i>abi3-9</i>	(Nambara et al., 2002)
<i>phyB-9</i>	(Reed et al., 1993)
<i>hy5-215</i>	(Ang et al., 1998)
<i>elf3-1</i>	(Zagotta et al., 1996)
<i>cop1-4</i>	(McNellis et al., 1994)
<i>pif3-3</i>	(Leivar et al., 2008)
<i>pif4-101</i>	(Lorrain et al., 2008)
<i>pif5-3</i>	(Fujimori et al., 2004)
<i>pif7-1</i>	(Leivar et al., 2008)
<i>pif3-3 pif4-101</i>	(Monte et al., 2004)
<i>pif4-101 pif5-3</i>	(Lorrain et al., 2008)
<i>pif3-3 pif4-101 pif5-3</i>	(Leivar et al., 2008)
<i>arf6-1</i>	(Nagpal et al., 2005)
<i>arf6-2 arf7/nph4</i>	(Pucciariello et al., 2018)
<i>arf6-1 arf8-2</i>	(Nagpal et al., 2005)
<i>fla9-1</i>	(Cagnola et al., 2018)
<i>fla9-2</i>	(Cagnola et al., 2018)
<i>fla3</i>	Cedida por José Estevez
<i>bin2-1</i>	(Li et al., 2001)
<i>ppk1,2,3</i>	(Liu et al., 2017)
<i>ppk1,2,4</i>	(Liu et al., 2017)
<i>amiR^{AK}</i>	(Liu et al., 2017)
<i>pIAA19:LUC</i>	(Hayes et al., 2019)
<i>pPIL1:LUC</i>	(Li et al., 2014)
<i>pHFR1:LUC</i>	Cedidas por Salomé Prat
<i>pPIF4:LUC</i>	Cedidas por Salomé Prat
<i>pPIF4:PIF4-LUC</i>	Cedidas por Salomé Prat
<i>pPIF4:LUC elf3-8</i>	Cedidas por Salomé Prat
<i>pPIF4:PIF4-LUC elf3-8</i>	Cedidas por Salomé Prat

- pELF3:LUC*..... Cedidas por Salomé Prat
- pELF3:ELF3-LUC*..... Cedidas por Salomé Prat
- pCCA1:LUC*..... (Pruneda-Paz et al., 2009)
- pLHY:LUC*..... (Baudry et al., 2010)
- 35S:LUC-HFR1 hfr1-4*..... (Sheerin et al., 2015)
- pPIN3:GUS*..... (Friml et al., 2002)
- pAUX1:GUS*..... (Vandenbussche et al., 2010)
- pPIF3:GUS*..... (Zhang et al., 2013)
- pPIF4:GUS*..... (Zhang et al., 2013)
- pPIF5:GUS*..... (Zhang et al., 2013)
-
- 35S:DII-Venus*..... (Brunoud et al., 2012)
- 35S:PIF4-GFP ("OX PIF4")*..... (Bernardo-García et al., 2014)
- 35S:PIF5-HA ("OX PIF5")*..... (Lorrain et al., 2008)
- pUBQ10:PHYB-YFP phyB-9*..... (Zheng et al., 2013)
- 35S:ELF3-YFP*..... (Herrero et al., 2012)
- pARF6:ARF6-n3GFP*..... (Rademacher et al., 2011)
- PHY5:HY5-YFP hy5*..... (Oravec et al., 2006)
- pPIF4:PIF4-GFP pif4-101*..... (Pucciariello et al., 2018)
-
- Líneas en fondo *Ler*
- aba1-1*..... (Koornneef & Jorna, 1982)
- gai rga rgl1 rgl3*..... (Achard et al., 2006)
- pRGA:GFP-(rga-Δ17)*..... (Dill, Jung, & Sun, 2001)
-
- Líneas en fondo mixto *col-0Ler*
- pRGA:RGA-GFP*..... (Blanco-touriñán et al., 2020)
-
- Líneas generadas en esta Tesis
- bin2-1 +/- 35S:PIF4-GFP*
- amiR^{AK} 35S:PIF4-GFP*

Estas líneas fueron obtenidas por cruzamiento controlado entre los respectivos parentales, seguido por sucesivas rondas de autofecundación. En cada ronda se seleccionaron individuos candidato en base a resistencia a marcadores de selección (Tabla M1) para la presencia de los transgenes *35S:PIF4-GFP*, *amiRNA^{PPK1PPK4}* y

amiRNA^{PPK2PPK3}, señal GFP positiva para la selección del transgen *35S::PIF4-GFP*, y marcadores fenotípicos como la formación de una roseta compacta y pequeña, con un marcado enrollamineto de las hojas verdaderas para la selección de la mutante *bin2-1*.

Línea transgenica		Marcador de selección	Concentración (mg/l)
<i>p35S::PIF4-GFP</i>		Kanamicina	50
<i>amiR</i> ^{4k}	<i>amiRNA</i> ^{PPK1 PPK4}	Basta	10
	<i>amiRNA</i> ^{PPK2 PPK3}	Hygromicina	20

Tabla M.1. Marcadores utilizados para la selección de líneas con múltiples transgenes generadas por cruzamiento.

Tratamientos de Restricción Hídrica

Restricción del riego

En los ensayos realizados con plantas de tomate y arveja, la condición de déficit hídrico se impuso mediante restricción del riego. Las plantas fueron asignadas al azar a los tratamientos control y de déficit hídrico cuando alcanzaron la expansión del primer par de hojas. En el tratamiento control, las macetas se mantuvieron dentro del rango 70% - 100% de capacidad de campo. En el tratamiento de déficit hídrico, las macetas se dejaron de regar hasta disminuir el contenido de agua del sustrato al 30% de capacidad de campo.

El volumen de agua correspondiente al 100% de capacidad de campo se estimó como la diferencia en el peso de las macetas regadas a saturación y dejadas drenar, menos el peso de las macetas secas (Ecuación 1). Este valor se utilizó para calcular el peso de las macetas conteniendo el sustrato a 70% y 30% de capacidad de campo (Ecuaciones 2 y 3).

$$H_2O(g) \text{ 100\%cc} = \text{peso}_{\text{saturación}} - \text{peso}_{\text{seco}} \quad (1)$$

$$\text{peso 70\%cc} = \text{peso}_{\text{seco}} + (0,7 \cdot H_2O \text{ 100\% cc}) \quad (2)$$

$$\text{peso 30\%cc} = \text{peso}_{\text{seco}} + (0,3 \cdot H_2O \text{ 100\% cc}) \quad (3)$$

Ecuaciones 1, 2 y 3.-Cálculo del volumen de agua necesario para alcanzar el 100% de capacidad de campo ($H_2O(g)$; (1)), y del peso de las macetas correspondiente al 70% (2) y 30% (3) de capacidad de campo (cc).

Al iniciar el régimen de riego limitado se pasó a usar agua en lugar de solución nutritiva para el riego, a fin de evitar diferencias entre tratamientos en los niveles de nutrientes.

Se realizaron dos repeticiones independientes de los ensayos con plantas de arveja y tomate +RL, con un mínimo de 10 y 4 plantas por tratamiento cada vez, y tres repeticiones independientes del ensayo de plantas de tomate cultivadas a distintas

densidades de siembra, con 24-25 plantas por tratamiento en cada una. En todos los casos, los tratamientos de señales de sombreado se iniciaron el mismo día que las macetas llegaron al 30% de capacidad de campo.

Agar de bajo potencial agua

En los experimentos con plántulas de *A. thaliana* se usó agar de bajo potencial agua (ψ_w) para simular condiciones de sequía de distinta severidad. Para esto, cajas plásticas transparentes con agar-agua 0,8% o MS (Murashige & Skoog, 1962) 0,5X fueron equilibradas con soluciones de distintas concentraciones de polietilenglicol de peso molecular 8000 (PEG 8000; Tabla M2) por 24 h (Osmolovskaya et al., 2018; Verslues et al., 2006). Dado su alto peso molecular, el PEG 8000 no atraviesa las membranas de las células vegetales ni es captado por las raíces, estas características permiten descartar efectos tóxicos del soluto sobre las plántulas (Hohl & Schopfer, 1991; Verslues, Ober, & Sharp, 1998). Esto lo vuelve adecuado para simular condiciones de sequía ya que genera pérdida de agua del protoplasto y de la pared celular, un proceso celular típico de respuesta a sequía por bajo contenido de agua en el suelo que no puede ser simulado por agregado de solutos como manitol al medio, que puede atravesar las paredes celulares generando plasmólisis (Osmolovskaya et al., 2018; Verslues et al., 2006; Weele, Spollen, Sharp, & Baskin, 2000).

ψ_w del agar (MPa)	PEG 8000 (g · lt ⁻¹)
-0,20	0
-0,56	250
-0,75	400
-1,20	700

Tabla M.2. Concentraciones de PEG8000 empleadas para lograr distintos valores de potencial agua en las cajas de agar.

Se verificó el ψ_w del agar mediante medición en cámaras psicrométricas acopladas a un microvoltímetro (CS52 Sample Chamber, Wescor Inc; HR-33T Dew Point Microvoltmeter, Wescor Inc.). El pH del agar, medido con tiras indicadoras de pH (Merk), luego de la incubación con las soluciones de PEG fue 6,0. Las cajas control fueron incubadas con agua destilada. En cajas chicas se usaron 5 ml de agar y 7,5 ml de solución, en cajas medianas se usaron 15 ml de agar y 22,5 ml de solución, y en los ensayos de bioluminiscencia se usaron 100 μ l de agar y 150 μ l de solución por pocillo.

Luego de la incubación durante la noche, se descartó el exceso de solución de cada caja. Las plántulas fueron transferidas en el soporte de papel de filtro a las cajas plásticas con agar de bajo ψ_w o control al inicio del tercer día de crecimiento en luz blanca.

Tratamientos de sombreado

Simulación de plantas vecinas con fuentes de luz rojo lejano lateral

En ensayos con plantas de tomate y arveja, la luz natural del invernáculo fue suplementada con radiación rojo lejano lateral durante todo el fotoperiodo para simular señales de sombreado vegetal. Para esto, se usó una fuente de 10 lámparas incandescentes (70 W) en combinación con un filtro de agua de 10 cm de espesor para regulación térmica, un filtro rojo (Lee Filter N° 26) y tres filtros acrílicos azules (Paolini 2031, 2,5 mm de espesor). La radiación dentro del rango PAR, R y RL fue registrada con un sensor de cuatro canales (SKR 1850, Skye Instruments) durante el mediodía, orientando el sensor hacia la fuente de RL (Figura M2). Se midió el incremento en el largo del tallo luego de 1 (tomate) o 3 (arveja) días de exposición a +RL.

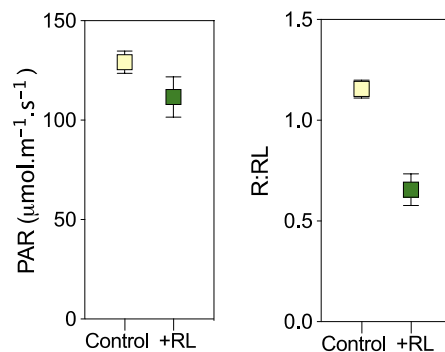


Figura M.4 - Irradiancia PAR y R:RL en los tratamientos control y de sombra simulada con fuentes de luz RL lateral (+RL).

Cultivo en distintas densidades de siembra

En el ensayo con plantas de tomate, se prepararon canopeos con densidades de siembra de 20, 90, 180 y 600 plantas·m⁻² ajustando la distribución y distancia entre macetas luego de que el grupo tratado con riego restringido alcanzó el 30% de capacidad de campo. Se usaron entre 24 y 25 macetas por condición en tres repeticiones independientes del ensayo. Las macetas se ordenaron en forma de cuadrado de 5 · 5 plantas (16 macetas en el borde del cuadrante y 9 centrales) para generar las densidades de 600 y 180 plantas·m⁻², o en forma de rectángulo de 6·4 plantas (16 macetas borde y 8 centrales) para generar las densidades de 90 y 20 plantas·m⁻². Las plantas crecieron en estas condiciones por 7

días. Se midió la PAR y la R:RL en cada combinación de tratamientos al final del experimento, colocando el sensor dentro de los cuadrantes de densidades generadas (Figura M3).

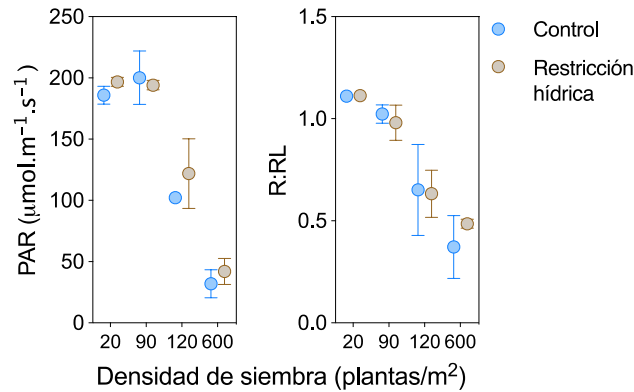


Figura M.5. Irradiancia PAR y R:RL en los tratamientos combinados de restricción hídrica y densidad de siembra.

Al final del experimento, se midió el largo total del tallo y el promedio de área foliar total por planta en cada condición. Con este último dato, se calculó el índice de área foliar (IAF) en cada combinación de condiciones de régimen hídrico y densidad de siembra.

En los experimentos con plántulas de *A. thaliana*, se sembraron 9, 16, 36, 81 o 145 semillas en MS 0,5X en un área de 2,25 cm², de modo que las plántulas crecieron a estos valores de densidad de siembra desde el inicio del experimento. Las plantas crecieron en cámara de crecimiento durante los 3 primeros días y al inicio del cuarto día fueron transferidas a un invernáculo. Se cultivaron en estas condiciones por 4 días. Se midió el largo del hipocotilo y área de cotiledones al final del experimento, y se determinó el IAF para cada combinación de tratamientos según la Ecuación 4.

$$IAF = \frac{\text{Área cotiledón} * 2 * n^{\circ} \text{plantulas}}{225 \text{ mm}^2}$$

Ecuación 4. Determinación del IAF a partir del valor de área promedio de un cotiledón en cada combinación de tratamiento de disponibilidad hídrica y densidad de siembra en los ensayos con *A. thaliana*.

Simulación del sombreado natural con filtros de acetato verde

En todos los demás experimentos realizados con *A. thaliana*, las plántulas fueron crecidas en cámara de cultivo a 22 °C, bajo fotoperiodo de 10 h y condiciones de luz blanca (PAR = 90 μmol m⁻²s⁻¹, R:RL = 1,1). Se usó un filtro de acetato verde (filtro LEE 089) para reducir la luz azul y roja, simulando condiciones de sombreado por plantas vecinas siguiendo metodología establecida en el laboratorio (Pacín et al., 2016). La distribución espectral de la luz fue medida con un espectrómetro USB4000-UVVIS, pre-configurado con un detector DET4-200-850 y una fibra óptica QP600- 2-SR (Ocean Optics Inc.,

<http://www.oceanoptics.com>). La luz azul, luz roja y luz rojo lejano se redujeron de 8,1, 9,1, y 8,3 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ en luz blanca a 1,3, 0,8, y 5,5 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, respectivamente, en sombra simulada. La relación R:RL se redujo de 1,1 a 0,1 (Figura M4).

Las plantas crecieron en luz blanca durante los tres primeros días (incluyendo la inducción de la germinación). Luego de la primera hora del fotoperiodo del cuarto día, la mitad de las cajas control y la mitad de las cajas de bajo ψ_w fueron pasadas a la condición de sombreado simulado y la otra mitad permaneció en condiciones control de luz blanca.

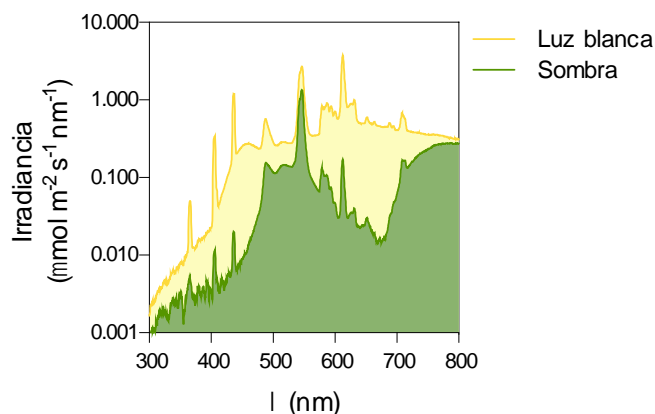


Figura M.6. Espectro de irradiancia lumínica en condiciones Control (Luz Blanca) y de sombra simulada con un filtro de acetato verde.

Medición de la longitud del tallo y cálculo del incremento de longitud de plantas de tomate y arveja

Se midió el largo del tallo de plantas de tomate y arveja con un calibre digital de 150 mm. En los ensayos con +RL lateral como señal de sombreado, las mediciones se hicieron al inicio y luego de 1 (arveja) y 2 (tomate) días de tratamiento lumínico. Se calculó el incremento diario en el largo del tallo como la diferencia entre el largo luego del primer día de exposición a +RL y el largo inicial en plantas de arveja, y entre el largo luego del segundo y primer día de tratamiento en plantas de tomate. En el ensayo de respuesta a densidades de siembra con plantas de tomate, se midió el largo final del tallo a la mitad del séptimo día. En estos ensayos, sólo se midieron las plantas que se encontraban dentro de los cuadrantes de densidades generadas.

Medición de largo y cálculo de la tasa de elongación del hipocotilo

Para medir el largo final del hipocotilo en respuesta a densidades de siembra, las plántulas crecidas sobre agar horizontal fueron colocadas verticalmente sobre una nueva

superficie y fotografiadas. Se usó el software ImageJ del NIH (Abràmoff, 2004) para medir largo de hipocotilo.

En los demás experimentos las cajas sembradas se colocaron en posición vertical. Se mantuvo la misma orientación luego de traspasar las plántulas en el soporte de papel de filtro a las cajas control y de bajo ψ_w . Para medir largo final, se fotografió cada caja y se usó el software de análisis de imágenes ImageJ. Para medir la tasa de elongación del hipocotilo, se tomaron fotografías de cada caja luego de la primera hora del fotoperiodo y al final del fotoperiodo del cuarto día. Se usó un software de análisis de imágenes (Adobe Photoshop CC) para superponer las fotos de horarios sucesivos y medir el incremento en el largo del hipocotilo en ese intervalo de tiempo. Se dividió el incremento por el tiempo (h) transcurrido para calcular la tasa horaria de elongación. Las fotografías se tomaron con una cámara digital (PowerShot; Canon, <http://www.canon.com>).

Medición del área de cotiledones u hojas y cálculo de la tasa de expansión

En los experimentos en que se estudió el área o la tasa de expansión de los cotiledones las cajas fueron colocadas horizontalmente. En el ensayo a distintas densidades de siembra, se tomaron fotografías al final del experimento y se usó el software Adobe Photoshop CC para medir el área de todos los cotiledones posibles de cada tratamiento. Para medir la tasa de expansión de los cotiledones, se tomaron fotografías luego de 1 h iniciado el fotoperiodo y al final del fotoperiodo de cuarto día. Se midió el área de cotiledón en cada uno de esos momentos usando el software de análisis de imágenes Adobe Photoshop CC, y se calculó la tasa de expansión como la diferencia en área cotiledonar durante 9 h. Las fotografías se tomaron con una cámara digital (PowerShot; Canon, <http://www.canon.com>).

En el ensayo de respuesta a densidades de siembra en plantas de tomate se removieron y escanearon (EPSON, <https://www.epson.es>) todas las hojas de al menos 3 plantas por tratamiento. A partir de la imagen generada, se midió el área foliar total por planta con el software ImageJ.

Tratamientos con ABA

Para evaluar el efecto del ABA sobre la respuesta de elongación por señales de sombra, se prepararon cajas plásticas transparentes con 5 ml de agar-agua 0,8% con distintas concentraciones de ABA (0,125; 0,25; 1 y 10 μM ABA), a partir de una solución stock 1 mM

de ABA (Sigma). El rango de concentraciones empleado permitió evaluar el posible efecto promotor del crecimiento a bajas concentraciones de esta hormona, sugerido en la literatura (Humplík et al, 2017), y aseguró observar los efectos inhibitorios conocidos a concentraciones mayores (Hayashi et al., 2014; Lorrain et al., 2018). Siguiendo el diseño experimental básico, las plántulas fueron transferidas con el soporte de papel de filtro a las cajas plásticas con agar con ABA o control al inicio del tercer día de crecimiento en luz blanca. Es decir, el momento de aplicación de ABA fue el mismo que el utilizado para la aplicación de PEG en los experimentos en condiciones controladas.

Meta-Análisis de ensayos de microarreglos publicados

Para identificar funciones y genes co-regulados por señales de sombra y disponibilidad hídrica se realizó un meta-análisis de datos de microarreglos ATH1 publicados. Los archivos de los transcriptomas publicados en Tao et al. (2008), Sessa et al. (2005), Mizoguchi et al. (2010) y Jie Ding et al. (2014) fueron obtenidos del repositorio Array Express de EMBL-EBI (<https://www.ebi.ac.uk/arrayexpress/>, Athar et al., 2019). Los archivos de los transcriptomas publicados en Badiger Bhaskara et al. (2012) fueron obtenidos del repositorio GEO de NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>). La señal de cada gen fue normalizada a la señal promedio de la condición control en todos los transcriptomas. El análisis fue restringido a los genes que mostraron presencia en todos los tratamientos, quedando así 9164 genes. Se realizó un ANOVA para identificar los genes que mostraban efectos de tratamiento significativos ($p < 0,072$, $q < 0,05$) (Storey & Tibshirani, 2003), obteniéndose una lista de 7668 genes. Sobre este set de genes, se realizó una prueba de t entre los tratamientos control y sombra ($t < 0,05$), y una prueba de t entre los tratamientos control y restricción hídrica ($t < 0,05$). Los genes de expresión regulada por los tratamientos de sombra y disponibilidad hídrica fueron asignados a una de 4 categorías posibles según su promedio de expresión: genes de expresión promovida en ambos tratamientos (1); genes de expresión reprimida en ambos (2); genes de expresión promovida por tratamientos de sombreado y reprimida por tratamientos de déficit hídrico (3); y genes de expresión reprimida por tratamientos de sombreado y up-regulada por tratamiento de restricción hídrica (4).

Se realizó un análisis de enriquecimiento de ontologías génicas (GO) para cada grupo de genes. Los términos de las categorías ontológicas fueron asignados con la herramienta BioMaps del software VirtualPlant1.3 (<http://virtualplant.bio.nyu.edu/cgi-bin/vpweb/>, Katari et al., 2010). El p-valor asociado a cada término corresponde al p-valor obtenido

para un test de Fisher corregido para contrastes múltiples. El factor de enriquecimiento fue calculado como la relación entre la proporción de genes asociado a un término GO dentro del grupo de interés y la proporción de genes asociado a ese término en el total de los genes representados en el microarreglo.

Tinción histoquímica de actividad β -glucuronidasa

A las 4 h del cuarto día o de un quinto día adicional de tratamiento (según se indica en cada caso), se cosecharon 10-20 plántulas que se incubaron en 250 μ l de acetona 90% fría por 20 min. Se enjuagó el material dos veces con 250 μ l de agua miliQ y se incubó en oscuridad a 37 °C en una solución de tinción 1mM de X-Gluc (5-bromo-4-cloro-3-indolil- β -D-glucuronido con 10% Triton X100, 100 mM de fosfato de sodio, 5 mM de ferri, 5 de ferro y 1 M de EDTA). El tiempo de incubación en solución de tinción fue ajustado según las características de cada línea reportera. Luego se realizaron una serie de lavados con alcohol desde 5% hasta 90%, en oscuridad y a temperatura ambiente hasta obtener transparentado absoluto del material vegetal (Pucciariello et al., 2018). Se tomaron imágenes de las plántulas transparentadas con una lupa digital Andonstar ADSM302 con sensor de imágenes de 3MP incorporado. Para cuantificar la intensidad de tinción se usó el software ImageJ. Las imágenes se convirtieron al modo HSB y se cuantificó tinción GUS en las zonas de interés usando el canal "*Saturation*" (Béziat, Kleine-vehn, & Feraru, 2017).

Para todas las líneas transgénicas medidas se cosecharon 10-20 plántulas por caja, usando dos cajas por tratamiento en cada una de las dos repeticiones independientes del experimento.

Ensayos de bioluminiscencia

En los ensayos de bioluminiscencia la siembra se hizo en placas de 96 pocillos. Las plantas crecieron 2 días en luz blanca. Se agregó 20 μ l de 0,5 mM D-Luciferina en la mitad del fotoperiodo del segundo día a cada pocillo (Karayekov et al., 2013). Al comienzo del tercer día, las plántulas se transfirieron a placas con mitad de pocillos control y mitad de bajo ψ_w . Al cuarto día, la mitad de las placas fue transferida a tratamiento de sombreado y la mitad permaneció en condiciones control de luz blanca. Se detectó actividad luciferasa cada 2 h desde el comienzo hasta el final del fotoperiodo con un luminómetro Centro LB 960 (Berthold). La señal de luminiscencia fue registrada como cuentas por segundo, durante tres segundos sucesivos por pocillo. En cada experimento, se usaron al menos 2 placas por cada condición lumínica, con un mínimo

de 12 plántulas de un mismo genotipo por cada condición hídrica. Para las líneas *pCCA1:LUC*, *pLHY:LUC* y *pELF3:LUC* se presentan resultados preliminares de un único experimento. En los demás casos, se presentan resultados de al menos dos experimentos.

Microscopía confocal

Se analizó la abundancia nuclear de proteínas fusionadas a los reporteros GFP, YFP o Venus en células epidérmicas o subepidérmicas del hipocotilo. Las imágenes se obtuvieron con un microscopio LSM5 Pascal (Zeiss), con un objetivo de inmersión en agua (C-Apochromat 40x/1,2; Zeiss) o con un microscopio LSM510 Meta (Zeiss). Para observar las proteínas fluorescentes GFP e YFP se usó un láser de Argón (488 nm) para la excitación y un filtro BP 505-530 para la detección. Para observar la proteína fluorescente Venus, se usó un Argón (488 nm) para la excitación y un filtro 505-570 para la detección.

Como los cloroplastos presentan una fuerte autofluorescencia y las clorofilas se excitan y emiten fluorescencia en rangos de longitud de onda dentro de los empleados para la excitación y detección de las proteínas fluorescentes, se usó un canal independiente con un láser de excitación He-Ne (543 nm) y un filtro LP 630 para detectar clorofila y poder distinguir cloroplastos en el canal de las proteínas fluorescentes.

En los casos donde se presenta la fluorescencia nuclear promedio las imágenes fueron analizadas con el software ImageJ. Con los canales de transmisión y clorofila se determinó el promedio de área celular y el área de la sección fluorescente analizada, y con estos valores se determinó el número de células (cociente entre el área analizada y el área por célula). Con los canales de proteína fluorescente y de clorofila se determinó la cantidad de núcleos fluorescentes, y la intensidad promedio en cada núcleo en el canal de la proteína fluorescente. Con estos valores se determinó la fluorescencia nuclear por célula, como la sumatoria de fluorescencia nuclear dividida el número de células (Ecuación 5).

$$\text{Fluorescencia nuclear por célula} = \frac{\sum \text{Fluorescencia nuclear}}{\text{Número de células}}$$

Ecuación 5. Cálculo de fluorescencia nuclear por célula.

Para determinar el tamaño promedio de los gránulos nucleares de phyB se tomó una imagen de la sección de hipocotilo a analizar identificando 4 núcleos de interés por imagen. Se tomó una imagen de cada núcleo de interés con una ampliación 8X. Se usó un método automático de análisis desarrollado en Matlab (R2008a; Trupkin et al., 2014) para determinar el tamaño promedio de gránulos por núcleo.

En los experimentos donde se cuantificó fluorescencia nuclear por célula, se analizaron dos o tres cajas, y tres plántulas por caja de cada tratamiento. Para cuantificar el tamaño promedio de gránulos nucleares de phyB, se analizaron dos o tres cajas, tres plántulas por caja y cuatro núcleos por plántula de cada tratamiento. Cada experimento fue realizado al menos en dos ocasiones distintas.

Las observaciones de microscopía confocal se realizaron en la Fundación Instituto Leloir con la colaboración de la Dra. Cecilia Costigliolo Rojas.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó mediante la aplicación de regresiones lineales múltiples. Este tipo de análisis permite determinar la significancia de los efectos principales y de la interacción entre tratamientos (por ejemplo, impacto de las condiciones hídricas en el efecto de las condiciones lumínicas), sin algunas de las restricciones del análisis de varianza factorial. En el análisis de respuestas fisiológicas en plantas de genotipo salvaje y transgénicas que portan construcciones reporteras en fondo salvaje, incluyendo crecimiento (Figuras R1, R2 y R3), actividad GUS revelada por tinción histoquímica (Figuras R8, R9, R12 y R21), bioluminiscencia medida por luminometría (Figuras R11, R13-18) o fluorescencia observada por microscopía confocal (Figuras R20, R21, R23, R24, R26-28) se aplicó el modelo básico. Este modelo básico incluyó las variables regresoras "condición lumínica" (Sombra = 1, Luz blanca = 0), "condición hídrica" (+PEG / Riego restringido = 1, Control = 0), e "interacción entre la condición lumínica y la condición hídrica" (producto de los valores que toma cada una de las variables individualmente). En los experimentos de respuesta a densidades de siembra (Figura 2), se usó el término "*log* (IAF)" como variable regresora que representa el efecto de condición lumínica porque a mayor IAF se produce mayor sombreado natural. Para las cinéticas obtenidas en el luminómetro se realizó un análisis independiente para cada tiempo de medición (0, 2, 4, 6, 8 y 10 h). Los términos significativos del modelo fueron identificados mediante software para regresión lineal por pasos (*stepwise*) de Statistix.

Para analizar el impacto de distintas mutaciones en la respuestas de crecimiento (Figuras R4-7, R10, R15, R23, R27, R28), en la señal de luminiscencia (R13 C y D) o en la fluorescencia observada en microscopía confocal (Figura R29) a las condiciones lumínicas e hídricas se utilizó el modelo básico al cuál se incorporó un término que representa el efecto principal del impacto del genotipo evaluado (WT- col-0 o *Ler*- = 1; mutante = 0), y términos que representan las interacciones "genotipo*condición hídrica",

“genotipo*condición lumínica” y “genotipo*condición hídrica*condición lumínica” que representa el efecto de ese componente en el impacto de la condición hídrica sobre la respuesta a las condiciones lumínicas. Los términos significativos del modelo fueron identificados mediante software para regresión lineal por pasos (*stepwise*) de Statistix. En las figuras donde se muestra la respuesta de más de un mutante, se realizó un análisis independiente por línea mutante (simple o múltiple).

En dos tipos de experimentos no se utilizó la variable “condición hídrica” como se describe arriba. En primer lugar, en un grupo de experimentos de respuesta a ABA exógeno (Figura R4) no se incluyó el término “condición hídrica” ya que no se realizó tratamiento hídrico. Se incluyeron los términos “ABA” (0; 0,125; 0,25; 1 y 10 según la concentración de ABA empleada en cada tratamiento), “ABA2” (*col-0=1, aba2=0*) o “ABA1” (*Ler=1, aba1=0*) según corresponda, y la interacción “ABA*condición hídrica*ABA2” o “ABA*condición hídrica*ABA1” respectivamente, para evaluar si ABA2 o ABA1 afectan la interacción entre el efecto del tratamiento con ABA exógeno y la condición lumínica. En segundo lugar, en un grupo de experimentos se utilizaron cuatro niveles de tratamiento hídrico (Figura 7) y la variable “condición hídrica” se cuantificó como: $1,2 \text{ MPa} + \psi_w$ donde 1,2 MPa corresponde al módulo del valor de potencial agua en la condición con mayor concentración de PEG y ψ_w corresponde al valor de potencial agua del medio en cada tratamiento (0 para $\psi_w = -1,2 \text{ MPa}$; 0,44 para $\psi_w = -0,76 \text{ MPa}$; 0,64 para $\psi_w = -0,56 \text{ MPa}$; 1,05 para $\psi_w = -0,15 \text{ MPa}$). De este modo, el término “condición hídrica” mantuvo relación al valor ψ_w de los tratamientos tal que fue progresivamente menor en tratamientos más severos, tomando siempre valores positivos que se asocian más intuitivamente a la disponibilidad de agua.

En todos los casos, se consideraron significativos los efectos con $p < 0,05$. Para simplificar la presentación, en las figuras se indica la significancia sólo para el término (o los términos) de interés. En los casos en que se aplicó el modelo básico para analizar el crecimiento, el término de interés es la interacción entre la condición hídrica y la condición lumínica porque en realidad ya se sabe que ambas variables por separado afectan el crecimiento y lo que se quiso evaluar es su acción conjunta. En el caso en que el modelo básico fue aplicado para analizar el estado de componentes de señalización que son conocidos por participar de la vía de señalización de las respuestas al sombreado, los términos de interés son la interacción entre las condiciones lumínica e hídrica o, si este no es significativo, el efecto principal de la disponibilidad hídrica. La razón de esto es que precisamente se quiso evaluar el impacto de la condición hídrica

sobre la red de señalización de las respuestas al sombreado. En los experimentos con mutantes, interesó la triple interacción entre condición hídrica, condición lumínica y genotipo pues en este caso se buscó saber si el impacto de la condición hídrica sobre la respuesta a la condición lumínica es afectado por el genotipo. Para las cinéticas obtenidas en los ensayos de bioluminiscencia también se indica el tiempo en que el término es estadísticamente significativo, pues esta condición no necesariamente es estable en todo el curso del experimento. Los valores de los coeficientes de regresión y la significancia de los todos los términos de cada análisis se presentan en Anexo.

Diagramas de cajas y bigotes

En todos los diagramas de caja y bigote presentados en esta tesis la línea central representa la mediana, y el símbolo “+” la media. Los límites superior e inferior de las cajas representan los percentiles 75% y 25% respectivamente. Los bigotes superior e inferior representan los percentiles 90% y 10% respectivamente.

Resultados

El déficit hídrico limita la respuesta de crecimiento en sombreado

Un primer objetivo fue determinar el patrón de la respuesta de alargamiento de tallos e hipocotilo a señales de sombreado en condiciones de déficit hídrico, pues los estudios previos indican que las respuestas a condiciones combinadas de sombra y déficit hídrico no son tan predecibles y varían según el carácter analizado (Quero et al., 2006) o la intensidad de las señales (Hagiwara et al., 2010; Holmgren et al., 2012).

En una primera aproximación se evaluó la respuesta de elongación del tallo principal en plantas de tomate y de arveja, cultivos estival e invernal respectivamente, a señales que simulan la presencia de plantas vecinas. A tal efecto se adicionó +RL a la radiación natural (para bajar R:RL) en combinación con tratamientos de óptima y escasa disponibilidad hídrica (Figura R1). Estos experimentos se realizaron en un invernáculo y el deterioro en el estado hídrico se consiguió por restricción del riego. En tomate, el tratamiento de restricción hídrica limitó el crecimiento en los dos niveles de condición lumínica evaluados, aunque el efecto fue mayor en sombra simulada. En plantas de arveja, la escasez de agua sólo limitó el crecimiento en respuesta a sombra simulada. Por lo tanto, en ambas especies, los efectos de los tratamientos no fueron aditivos (ver interacciones significativas en Figura R1), es decir que el efecto del déficit hídrico sobre el crecimiento dependió mayormente de la condición lumínica.

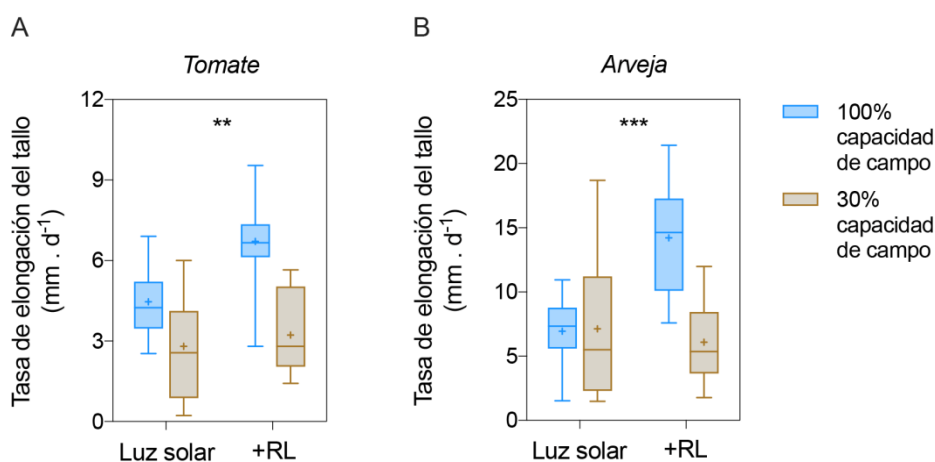


Figura R.1 - La disponibilidad hídrica limita la respuesta de crecimiento a bajas R:RL en *S. lycopersicum* y *P. sativum*.

A. Tasa de elongación del tallo de plantas de tomate luego de 2 d de tratamiento de sombra simulada con +RL lateral. Se muestran datos de al menos 16 plantas en macetas utilizadas en dos experimentos independientes.

B. Tasa de elongación del tallo en plantas de arveja luego de 1 d de tratamiento de sombra simulada con +RL lateral. Se muestran datos de al menos 13 plantas en macetas utilizadas en dos experimentos independientes.

En cada figura se indica la significancia de la interacción entre las condiciones lumínicas e hídricas (** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

La presencia de plantas vecinas genera sombreado, que implica una menor cantidad de luz llegando a las plantas (especialmente en el rango PAR), además de una caída de R:RL. Para evaluar el patrón de respuesta a los tratamientos hídricos en condiciones de sombreado corriente, se generaron distintas densidades de siembra ajustando la distancia entre macetas de plantas de tomate (Figura R2 A) o la distancia de siembra entre semillas de *A. thaliana* (Figura R2 B). En el experimento con plantas de tomate el déficit hídrico se consiguió por restricción del riego, mientras que en el experimento con *A. thaliana* las plántulas fueron transferidas a cajas con agar de bajo potencial agua ($\psi_w = -0,76$ MPa) al inicio del tercer día de crecimiento en LB. Se calculó el índice de área foliar (IAF; área foliar total/área de suelo) como parámetro indicador de la densidad del canopeo y, por lo tanto, de la intensidad de la señal de sombreado vegetal. Las dos especies mostraron un patrón de respuesta similar. En ambos casos, la respuesta de crecimiento aumentó progresivamente con las densidades de siembra. El impacto del déficit hídrico también se incrementó con las densidades de siembra. El déficit hídrico afecta la expansión foliar y eso se reflejó en los valores de IAF, que a densidad de siembra constante fueron menores en déficit hídrico que en la condición control, pero esta circunstancia no afecta el análisis porque las pendientes indican diferencias a igual IAF.

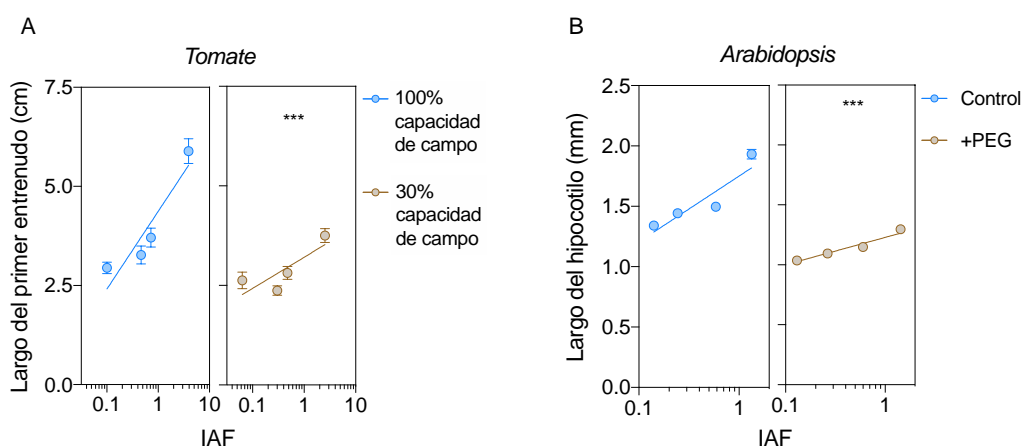


Figura R.2 - La disponibilidad hídrica limita la respuesta a densidades de siembra en plantas de tomate y en plántulas de *A. thaliana*.

- Largo del primer entrenudo en plantas de tomate en función del IAF, luego de 7 d de crecimiento en condiciones control o de restricción hídrica. Los datos corresponden a las medias \pm E.E. de 20-27 plantas en macetas medidas en tres experimentos independientes.
- Largo del hipocotilo en función del IAF para plántulas de 7 d de *A. thaliana*, luego de 5 d de crecimiento en condiciones control o de déficit hídrico (ψ_w del agar = $-0,76$ MPa). Los datos corresponden a las medias \pm E.E. de al menos 3 réplicas (cada réplica es una caja con al menos 12 plántulas medidas).

En cada panel, las rectas fueron obtenidas por regresión lineal. Se indica la significancia de la interacción entre las condiciones hídricas y lumínicas (***) ($p < 0,001$).

Finalmente se evaluó la tasa de elongación del hipocotilo durante 9 h de tratamiento de sombra simulada mediante el uso de fuentes de luz artificial y un filtro que reduce tanto la radiación PAR como la R:RL, en plántulas salvajes de *A. thaliana* (accesión *col-0*), crecidas en cámara de cultivo y condiciones controladas durante todo el experimento (Figura R3). Para el tratamiento de déficit hídrico las plántulas fueron transferidas a cajas de bajo ψ_w al inicio del tercer día de crecimiento en luz blanca. Siguiendo el patrón de respuesta observado, el incremento en la tasa de crecimiento del hipocotilo en respuesta a sombra simulada fue limitado por el déficit hídrico.

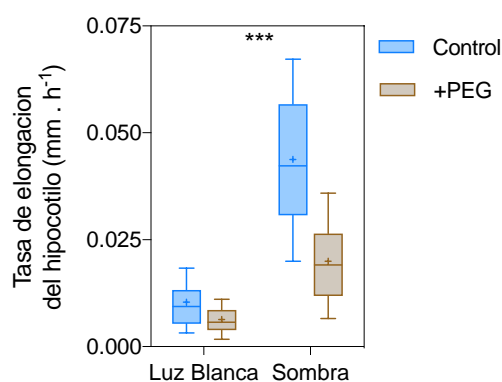


Figura R.3 - La disponibilidad hídrica limita la respuesta de crecimiento a sombra simulada.

Tasa de elongación del hipocotilo en plántulas salvaje, accesión *col-0*, de *A. thaliana* en 9 h de tratamiento en sombra simulada. Las plántulas fueron transferidas al tratamiento de déficit hídrico al inicio del tercer día de crecimiento en LB. El tratamiento de sombra se inició luego de 1 h del fotoperiodo del cuarto día. Los datos corresponden a 6-9 réplicas (cada réplica es una caja con al menos 9 plántulas medidas). Se indica la significancia de la interacción entre las condiciones hídricas y lumínicas (***) ($p < 0,001$).

En conjunto, estos resultados indican que el déficit hídrico limita las respuestas de crecimiento a señales de sombra natural (Figura R2), bajas R:RL (Figura R1) o sombra simulada (Figura R3). Asimismo, el patrón de respuesta fue similar para las dos metodologías empleadas para imponer condiciones de déficit hídrico (agar de bajo ψ_w o restricción del riego). Todos los resultados que se presentan a continuación fueron obtenidos a partir de experimentos realizados en condiciones controladas utilizando sombra simulada y agar-agua. En los casos en que se modificó el ψ_w se utilizó el agregado de PEG para tal propósito.

Interacciones entre el ABA y las respuestas de crecimiento a la sombra

El ABA es la principal hormona en la regulación de respuestas de escape y tolerancia a escasez de agua, y condiciones de déficit hídrico promueven un incremento en los niveles de ABA (Dilukshi Fernando & Schroeder, 2016; Kalladan et al., 2017; Kumar et al., 2019; Zhu, 2002, 2016). Teniendo en cuenta que el tratamiento con ABA exógeno puede

reprimir el crecimiento del hipocotilo mediante la inactivación de las H⁺-ATPasa de membrana plasmática en plántulas etioladas (Hayashi et al., 2014), y mediante la interacción con la vía de GA durante la escoto- y fotomorfogénesis (Lorrai et al., 2018), se consideró que el ABA podría mediar la inhibición de la respuesta a plantas vecinas causada por el déficit hídrico.

Una predicción de la hipótesis planteada en el párrafo anterior es que el tratamiento con ABA exógeno reprimiría la respuesta de crecimiento por señales de sombra, reproduciendo el patrón de respuesta observado en déficit hídrico. Se analizó la respuesta a la sombra en dos accesiones salvajes, Columbia (*col-0*) y Landsberg *erecta* (*Ler*). De acuerdo con la predicción, en ambas accesiones, el tratamiento con ABA reprimió fuertemente la respuesta de crecimiento. Los tratamientos con concentraciones crecientes de ABA limitaron progresivamente la respuesta de crecimiento en *col-0*, mientras que la accesión *Ler* fue insensible a las concentraciones intermedias y sólo respondió al tratamiento con 10 μM ABA.

Una segunda predicción de la hipótesis planteada es que mutantes afectados en la biosíntesis o señalización de ABA mostrarían mayor respuesta de crecimiento a la sombra que el genotipo salvaje, particularmente en la situación de déficit hídrico. Sin embargo, los mutantes *aba2* y *aba1*, que son defectuosos en la síntesis de ABA y presentan bajo contenido de esta hormona (Léon-Kloosterziel et al., 1996; Tischler et al., 2017), tuvieron menor respuesta a sombra que los genotipos salvajes (*col-0* y *Ler* respectivamente) entre 0 - 1 μM ABA (ver interacciones significativas en Figura R4).

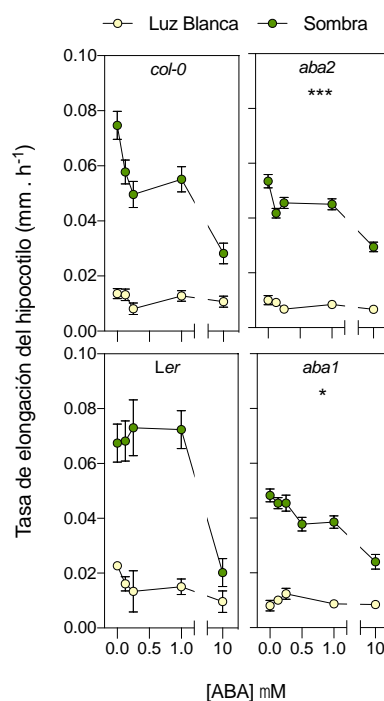


Figura R.4 – El ABA inhibe la respuesta a sombra, pero mutantes en la síntesis de ABA fallan en la respuesta a sombra.

Tasa de elongación del hipocotilo en respuesta al tratamiento de sombra simulada. Los datos corresponden a las medias \pm E.E. de 3-4 réplicas (cada réplica es una caja con al menos 4 plántulas medidas). Se indica la significancia de los términos interacción entre condición lumínica, concentración de ABA y la presencia de ABA2 (panel superior) o ABA1 (panel inferior) (* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$).

El último resultado fue inesperado y se decidió reanalizar este patrón en más detalle, incluyendo además de *aba2* a *nced3*, un segundo mutante de la síntesis de ABA, y *abi5* y *abi3*, que son mutantes de la vía de señalización de ABA (Figura R5). En particular, se sabe que el ABA es la principal hormona en la imposición de la dormición e inhibición de la germinación (Finkelstein & Rock, 2002; Garcarrubio et al., 1997; Hilhorst, 1995). Mutantes en componentes vinculados a la promoción de la vía del ABA presentan una tasa alta de germinación, aún en condiciones no inductivas, y un desarrollo post-germinativo acelerado. Esto podría afectar la magnitud de la respuesta de elongación del hipocotilo, como consecuencia de diferencias en el estado de desarrollo de las plántulas al momento de ser expuestas al tratamiento de sombra. Para evaluar estos efectos, las plántulas fueron clasificadas en tres clases según su nivel de desarrollo (longitud del hipocotilo, grado de apertura de los cotiledones), y se analizó la respuesta de crecimiento a la sombra separadamente en cada clase. El patrón de respuesta a la sombra fue independiente de la clase (Figura S1 Anexo). Asimismo, no se encontró relación entre el largo del hipocotilo previo al tratamiento de sombra, indicador del grado de avance en el desarrollo, y su tasa de elongación en respuesta al sombreado (Figura S1 Anexo). Debido

a que no había motivos para separar grupos de plántulas, en la Figura R5 se integraron los datos de las tres clases.

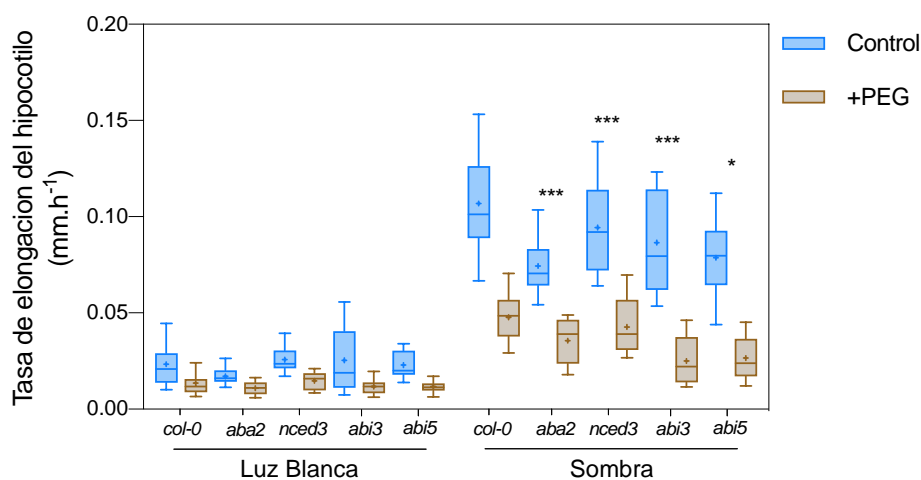


Figura R.5 – Mutantes de la vía del ABA fallan en la respuesta a sombra, y retienen la respuesta a disponibilidad hídrica.

Tasa de elongación del hipocotilo en respuesta a sombra simulada. Los datos corresponden a 8-12 réplicas (cada réplica es una caja con al menos 5 plántulas medidas). Para cada mutante, se indica la significancia de la interacción entre los efectos de genotipo, condición lumínica e hídrica (*aba2*, *nced3*, *abi5*), o genotipo y condición lumínica (*abi3*) (* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$).

Los mutantes evaluados no acentuaron la respuesta a sombra ni limitaron el efecto del déficit hídrico como se proponía a partir de la hipótesis original. Sin embargo, es importante notar que los mutantes redujeron la tasa de crecimiento en condiciones de sombra y por lo tanto no se puede argumentar que la falta de un efecto positivo sea la mera consecuencia de redundancia entre genes que no permita ver el efecto de las mutaciones, porque las mutaciones tienen efecto (Figura R5).

En conjunto, estos resultados indican que los efectos del ABA sobre el crecimiento son duales, observación ya comentada en la literatura (Barrero et al., 2005; Finkelstein & Rock, 2002; Humplík et al., 2015; Humplík et al., 2017; Sharp et al., 2000; Spollen et al., 2000; Yoshida et al., 2019). Además, el ABA podría afectar las respuestas al sombreado por dos vías de efectos opuestos. Se dejan las interpretaciones de estas observaciones para la sección Discusión, pero las mismas ponen de manifiesto la necesidad de buscar otros componentes que ayuden a entender los mecanismos mediante los cuales las restricciones hídricas afectan a las respuestas a los cambios en condiciones de luz causados por plantas vecinas.

Mutaciones en componentes centrales de la respuesta al sombreado limitan la respuesta a la disponibilidad hídrica

En base a los antecedentes descritos en la Introducción (Franciosini et al., 2017; Gao et al., 2018; Gao et al., 2018b; Kudo et al., 2019; Lorrai et al., 2018; Nakamura et al., 2007; Todaka et al., 2012) se evaluó el rol de *PIF3*, *PIF4* y *PIF5* en la respuesta de crecimiento a sombra y déficit hídrico mediante análisis genético. Se midió el largo del hipocotilo luego de 1,5 d de tratamiento en sombra simulada en los mutantes *pif4*, *pif4 pif5* y *pif3 pif4 pif5* (Figura R5). El tratamiento de déficit hídrico tuvo un efecto mayor en sombra simulada que en condiciones control, siguiendo el patrón de respuesta observado en los resultados de los experimentos presentados arriba. De acuerdo a lo esperado, las mutaciones en los genes *PIF* afectaron la respuesta a sombra (Leivar et al., 2012; Leivar, Tepperman, et al., 2012; Lorrain et al., 2008; Sellaro et al., 2012). La magnitud de la respuesta a déficit hídrico disminuyó progresivamente en los mutantes *pif4*, *pif4 pif5* y *pif3 pif4 pif5*. Esto es, los mutantes limitaron el impacto del déficit hídrico sobre la respuesta a sombra. La triple interacción entre los efectos de disponibilidad hídrica, condición lumínica y genotipo fue significativa, indicando que el efecto de los *PIFs* es mayor en sombra y buena disponibilidad de agua, o lo que es equivalente, la respuesta a la condición hídrica requiere de *PIF3*, *PIF4* y *PIF5*.

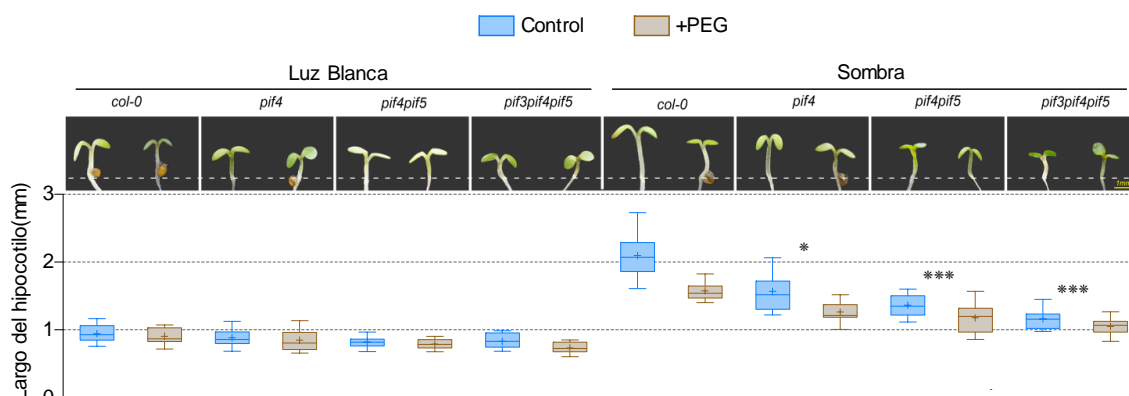


Figura R.6 – Mutaciones en *PIF3*, *PIF4* y *PIF5* afectan la respuesta a déficit hídrico en sombra.

Largo del hipocotilo luego de 1,5 d de crecimiento en sombra simulada. Se muestran datos de tres réplicas (cada réplica es una caja con al menos 3 plántulas medidas). Para cada mutante, se indica la significancia de la interacción entre los efectos de genotipo, condición hídrica y condición lumínica (* p < 0,05; *** p < 0,001).

En un análisis genético más detallado, se evaluó la tasa de crecimiento de mutantes para componentes promotores y represores del crecimiento, importantes en la regulación de la respuesta al sombreado, en función del ψ_w del medio, usando cuatro niveles de ψ_w (-0,15, -0,56, -0,76 y -1,2 MPa, Figura R6). El crecimiento fue limitado progresivamente con tratamientos más fuertes de restricción hídrica. El impacto del déficit hídrico fue mayor en

sombra simulada que en luz blanca, siguiendo el patrón de respuesta ya caracterizado. El 80 % de las líneas mutantes o transgénicas seleccionadas por sus efectos conocidos sobre las respuestas al sombreado afectó la respuesta a la disponibilidad hídrica en condiciones de sombreado, como lo indica la interacción significativa entre condición lumínica, condición hídrica y genotipo. Las líneas restantes (*phyB*, *OxPIF5* y *arf6*) tuvieron interacción genética con la disponibilidad hídrica, indicado por la significancia de la interacción entre condición hídrica y genotipo.

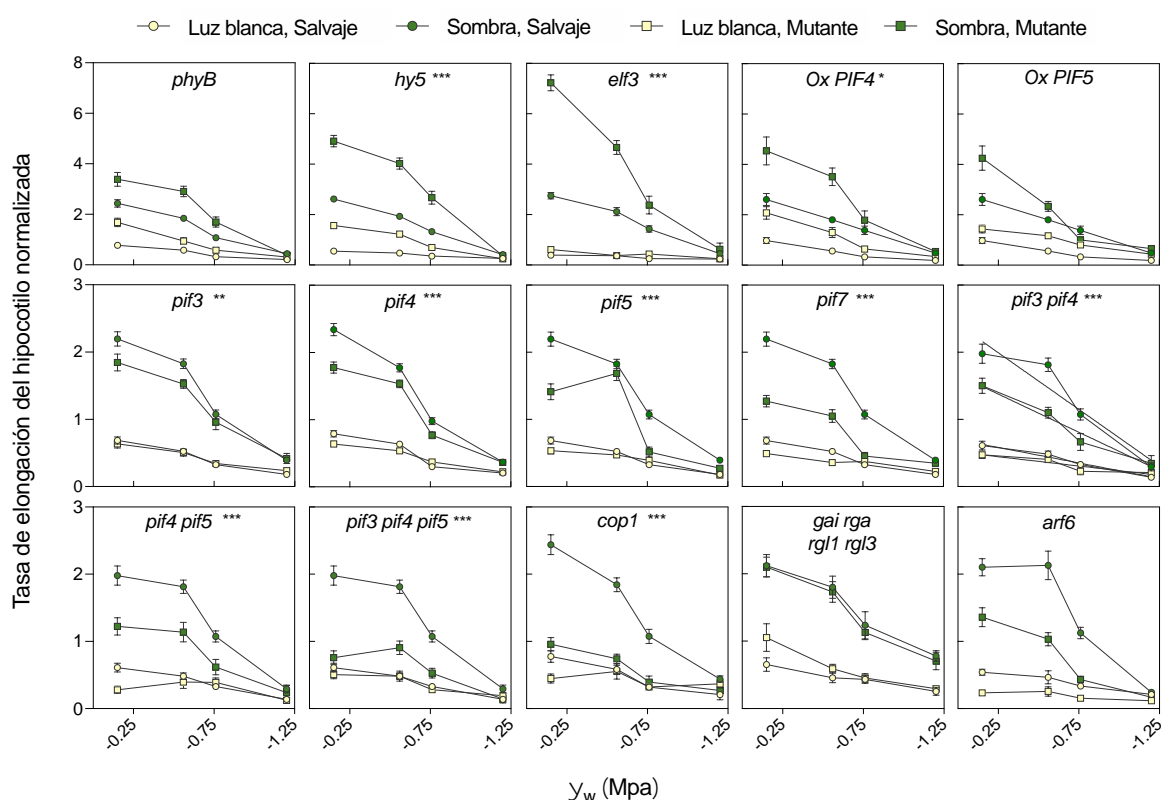


Figura R.7 - Análisis genético del impacto del déficit hídrico sobre el efecto de las señales de sombra en la respuesta de crecimiento del hipocotilo.

Tasa de elongación del hipocotilo normalizada a cada experimento en función del ψ_w del sustrato. Los círculos representan al genotipo salvaje (col-0 en todas las comparaciones excepto el cuádruple *gai rga rgl1 rgl3*, comparado con la accesión Ler), y los cuadrados al genotipo mutante. Los datos corresponden a las medias \pm E.E. de al menos 6 réplicas (cada réplica es una caja con al menos 3 plántulas medidas). En cada panel se indica la mutación analizada y la significancia de la interacción entre los términos genotipo, condición hídrica y condición lumínica (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

Genes cuya expresión es afectada por la disponibilidad hídrica y la sombra

El análisis genético de la respuesta de crecimiento mostró que el efecto de mutaciones en componentes de la red es dependiente de la interacción entre la condición lumínica y la condición hídrica. Esta observación es compatible con dos posibles mecanismos que la expliquen. El primero podría definirse como un mecanismo indirecto, según el cual, en

déficit hídrico el crecimiento estaría limitado por pérdida de turgencia, y de ese modo se reduciría la respuesta al sombreado. Siguiendo con esta idea, si la respuesta al sombreado es menor, el impacto de las mutaciones que afectan al sombreado también sería menor. El segundo involucraría la acción directa del estado hídrico sobre la red de señalización que promueve el crecimiento en respuesta al sombreado.

Una predicción asociada a la hipótesis basada en efectos directos es que la disponibilidad de agua podría afectar la expresión de genes que regulan las respuestas a señales de plantas vecinas. Para explorar esta posibilidad, se realizó un meta-análisis a partir de datos transcriptómicos publicados de plántulas expuestas a tratamientos de señales de sombreado o tratamientos de estrés hídrico. En total, se encontraron 509 genes de expresión regulada por ambos tratamientos (Tabla S1). De estos, 66 genes fueron promovidos por señales de sombra y reprimidos por déficit hídrico (Grupo 1), 121 genes fueron reprimidos por señales de sombra y promovidos por tratamientos de déficit hídrico (Grupo 2), 286 genes de expresión reprimida por ambos tratamientos (Grupo 3) y 36 genes de expresión promovida por ambos tratamientos (Grupo 4) (Tabla S1). Se realizó un análisis de GO para identificar procesos relacionados con los genes enriquecidos en cada grupo (Tabla S2). El grupo 1 se encontró enriquecido en genes relacionados al crecimiento celular, metabolismo de hormonas, y transporte de auxinas. Este grupo es interesante pues esos términos de GO se vinculan a la promoción del crecimiento celular, de modo que su inducción por sombra y represión por déficit hídrico reproduce el patrón de la respuesta fisiológica (ver Figuras R1-7). Por lo tanto, este resultado es consistente con la hipótesis de un efecto directo presentada arriba. Para completar el panorama, cabe mencionar que el Grupo 2 resultó enriquecido en términos relacionados a procesos de metabolitos secundarios, como fenilpropanoides y flavonoides. Estos grupos incluyen pigmentos foto-protectores, y suelen ser reprimidos por tratamientos de sombreado (Sellaro et al., 2017). El grupo 3 resultó enriquecido en genes relacionados a la fotosíntesis, proceso afectado por ambos tipos de tratamiento (Cagnola et al., 2012; Nouri et al., 2015; Roig-Villanova et al., 2007; Sharma et al., 2018) y los genes del grupo 4 no se asociaron significativamente a ninguna categoría ontológica.

La función "transporte polar de auxinas", sobre-representada en el Grupo 1, incluyó a los genes *PIN3*, *AUX1* y *ACL5*. A partir de los datos del meta-análisis, que en este caso tienen un valor orientativo, se estudió la actividad de los promotores *PIN3* y *AUX1* en experimentos en que se aplicaron ambos tratamientos y su combinación, como en los experimentos fisiológicos. *PIN3* codifica para un transportador de eflujo de auxinas

importante en la respuesta de escape al sombreado (Keuskamp et al. 2010; Kohnen et al., 2016). *AUX1* codifica para un transportador de flujo de auxinas (Bennett et al., 1996; Yang et al., 2006). Para estos experimentos se utilizaron líneas reporteras *pPIN3::GUS* y *pAUX1::GUS*, que permiten evaluar la actividad de los promotores e identificar los principales sitios de expresión. La actividad del promotor *PIN3* fue evaluada en dos órganos (hipocotilo y pecíolo) y dos duraciones de tratamiento de sombra (4 y 36 h), pero en las condiciones de este trabajo no se observó la promoción en la actividad del promotor *PIN3* observada por otros laboratorios en respuesta a bajas R:RL (Keuskamp et al., 2010; Kohnen et al., 2016), probablemente porque en los casos previos se utilizó +RL para bajar la R:RL sin afectar PAR y aquí se simuló el sombreado, lo que implica una caída en la irradiancia (Figura R8). Tampoco se observó mayor actividad del promotor *AUX1*, ni en el meristema apical ni en la base del hipocotilo; por el contrario la sombra redujo dicha expresión (Figura R9). El déficit hídrico redujo la actividad del promotor *PIN3* con poca influencia de la condición lumínica (Figura R8) y redujo la actividad del promotor *AUX1* en la base del hipocotilo (Figura R9). La reducción de la expresión de *PIN3* y *AUX1* por la inadecuada disponibilidad hídrica podría causar un menor transporte de auxinas y contribuir de ese modo a reducir la respuesta al sombreado.

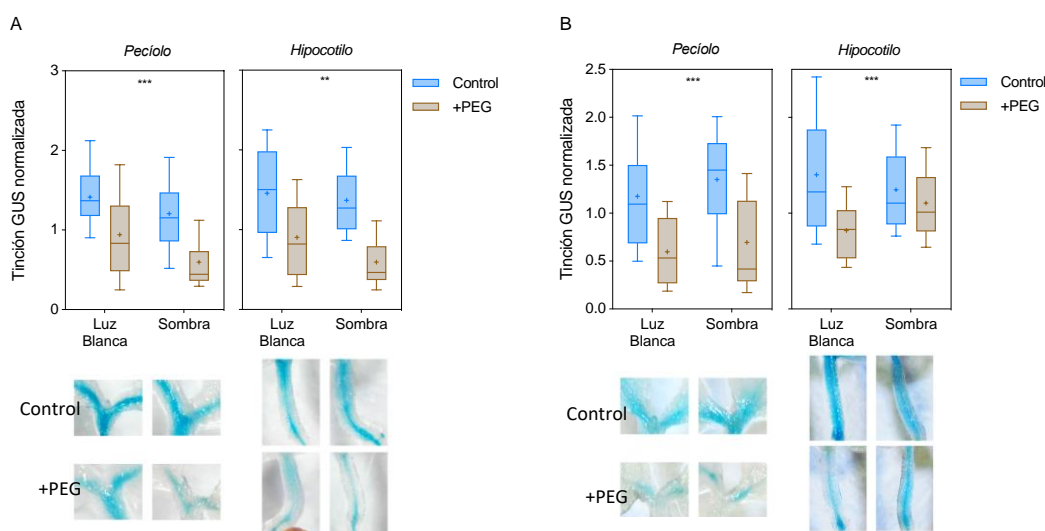


Figura R.8 – La actividad del promotor *PIN3* depende de la disponibilidad hídrica.

- A. Actividad normalizada a cada experimento del promotor *PIN3* en pecíolo e hipocotilo luego de 4 h de tratamiento en sombra. Se muestran los datos de 4 réplicas (cada réplica es una caja con al menos 10 plántulas). El panel inferior muestra imágenes representativas.
- B. Actividad normalizada a cada experimento del promotor *PIN3* en pecíolos e hipocotilo luego de 36 h de tratamiento en sombra. Se muestran datos de 4 réplicas (cada réplica es una caja con al menos 8 plántulas).

Se indica la significancia (** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$) del efecto principal de la condición hídrica (Pecíolo, A y B) y del efecto de interacción entre las condiciones hídrica y lumínica (Hipocotilo, A y B).

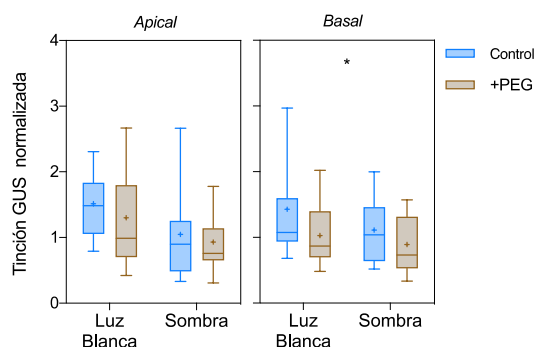


Figura R.9 – La disponibilidad hídrica afecta la actividad del promotor AUX1.

Actividad normalizada del promotor AUX1 en el meristema apical y la base del hipocotilo en plántulas expuestas a 4h de tratamiento de sombra. Se muestran datos de 4 réplicas (cada réplica es una caja con al menos 6 plántulas). Se indica la significancia del efecto principal de la condición hídrica (* $p < 0,05$).

Un gen interesante dentro del grupo de los promovidos por sombra y reprimidos por déficit hídrico, aunque no resultó representado en ninguna categoría ontológica, fue *FLA9*. *FLA9* pertenece a una familia de genes involucrados en la remodelación de la pared celular, previamente caracterizados como genes de expresión reprimida por tratamientos de sequía en maíz y *A. thaliana* (Cagnola et al., 2018; Huang et al., 2008). En *A. thaliana*, el mutante pérdida de función *fla9-1* presenta fenotipo de aborto de semillas típico de sequía aún en condiciones óptimas de disponibilidad hídrica, mientras que el mutante sobre-expresante *fla9-2* revierte ese fenotipo únicamente en condiciones de estrés hídrico (Cagnola et al., 2018). No está claro si participan del control de respuestas a plantas vecinas, aunque *FLA9* y otros miembros de la familia suelen encontrarse promovidos por señales de sombra en ensayos transcriptómicos (Sellaró et al., 2017). Para evaluar el posible rol de genes *FLA* en el control de respuestas a sombra por el estado hídrico, se midió la tasa de elongación del hipocotilo en 9 h de tratamiento de sombreado, en los mutantes *fla9-1*, *fla9-2* y *fla3* (Figura R10). Las mutaciones no afectaron el crecimiento en luz blanca, pero sí limitaron la respuesta de crecimiento en sombra. Estos resultados, aunque preliminares, indican que la normal funcionalidad de genes *FLA*, conocidos por su papel en las respuestas a sequía (Cagnola et al., 2018) también serían necesarios para la respuesta a la sombra.

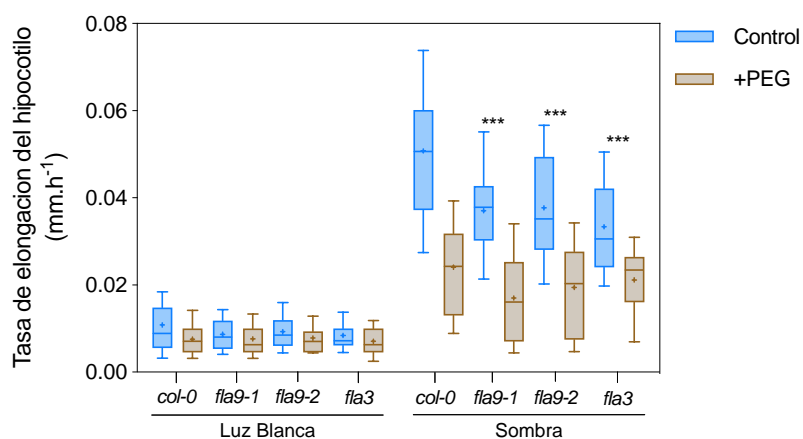


Figura R.10 - Respuesta de crecimiento en mutantes para genes *fla*.

Tasa de elongación del hipocotilo en 9h de tratamiento de sombra simulada. Los datos corresponden a al menos tres réplicas (cada réplica es una caja con al menos 10 plántulas). Se indica la significancia de la interacción entre los efectos de genotipo y condición lumínica (*fla9-1*), o entre los efectos de genotipo, condición lumínica e hídrica (*fla9-2*, *fla3*) (***) ($p < 0,001$).

Estos resultados son favorables a un modelo de integración de las señales lumínicas e hídricas en el control de la respuesta de crecimiento a través de la regulación de componentes en común (*PIN3*, *FLA9*), aunque no son suficientes para concluir sobre la existencia de efectos directos de la disponibilidad hídrica sobre la vía de respuesta a sombra. Para ello, se evaluó la actividad de los promotores *IAA19*, *HFR1* y *PIL1*, tres genes de expresión fuertemente promovida por señales de plantas vecinas (Hornitschek et al., 2012; Sessa et al., 2005), mediante ensayos de bioluminiscencia en líneas *pIAA19::LUC*, *pHFR1::LUC* y *pPIL1::LUC* (Figura R11). El tratamiento de restricción hídrica limitó la actividad de los promotores *IAA19* y *PIL1* en respuesta a las condiciones de sombreado. En cambio, la actividad del promotor *HFR1* no fue afectada por los tratamientos de disponibilidad hídrica. Estos resultados indican una especificidad en los efectos transcripcionales del déficit hídrico (la disponibilidad hídrica no afecta la expresión de genes marcadores de respuesta a plantas vecinas en general, sino que afecta específicamente la expresión de algunos de ellos).

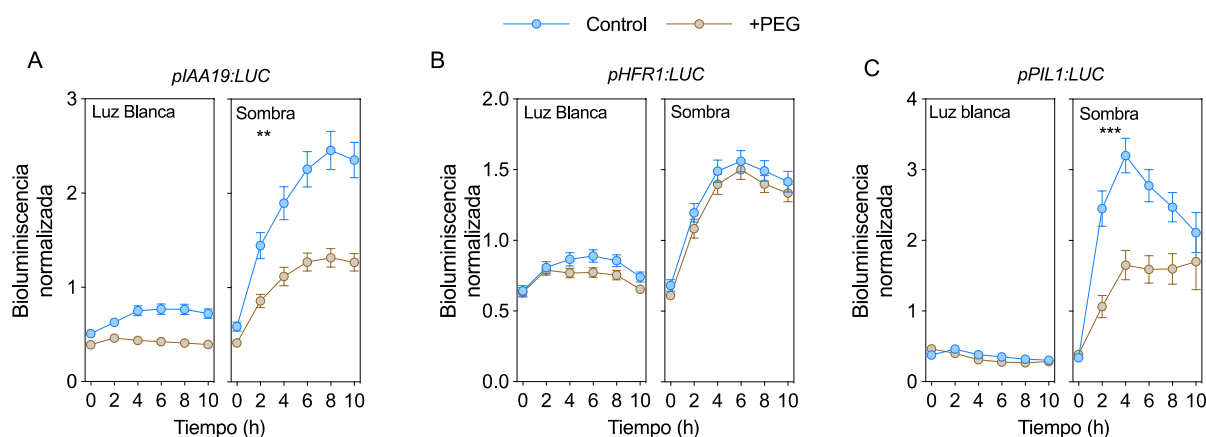


Figura R.11 – La disponibilidad hídrica limita la actividad de algunos promotores de genes marcadores de respuesta a sombra.

Intensidad de luminiscencia normalizada a cada experimento de líneas *pIAA19::LUC* (A), *pHFR1::LUC* (B) o *pPIL1::LUC* (C) en las 10 h del fotoperíodo. El tratamiento de sombra se inició luego de la primera hora del fotoperíodo. Los datos corresponden a la media \pm E.E. de al menos 70 (A), 72 (B) y 28 (C) réplicas, cada réplica es un pocillo. Se indica la significancia del efecto interacción entre las condiciones hídricas y lumínicas, correspondiente a todos los horarios analizados (** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

La disponibilidad hídrica modula la expresión y acumulación de PIFs en cotiledones

La disponibilidad hídrica afectó el crecimiento en respuesta a sombra simulada, la expresión de genes comúnmente regulados por señales de plantas vecinas, y limitó específicamente la expresión de algunos genes reporteros de respuesta a plantas vecinas. Estos resultados indican que el déficit hídrico en los niveles evaluados no limita el crecimiento simplemente por impedimentos biofísicos a la expansión celular, sino que las señales serían integradas a nivel de la vía de transducción que controla el crecimiento. En conjunto, son compatibles con la hipótesis de efectos directos de la disponibilidad hídrica sobre la red de señalización de respuesta a plantas vecinas y sus componentes.

Mutantes simples o en combinación múltiple de *PIF3*, *PIF4* y *PIF5* limitaron la respuesta a déficit hídrico (Figuras R6 y R7). Estos resultados, además de antecedentes mencionados en la sección Introducción, sugieren una regulación de *PIF3*, *PIF4* y/o *PIF5* por escasez de agua. Los cambios observados en la respuesta transcripcional a señales de sombra en déficit hídrico (Figura R11) podrían explicarse por un efecto de la disponibilidad hídrica sobre los *PIFs*. Para evaluarlo, se analizó la actividad de los promotores *PIF3*, *PIF4* y *PIF5* en cotiledones, el principal órgano de percepción de señales de sombreado por plantas vecinas y síntesis de auxinas, mediante tinción histoquímica de actividad GUS usando líneas reporteras *pPIF3::GUS*, *pPIF4::GUS* y *pPIF5::GUS* (Figura R12). La actividad de los tres promotores fue limitada por el déficit hídrico. El tratamiento restrictivo limitó la actividad del promotor *PIF3* únicamente en sombra simulada, la actividad del promotor

PIF4 fue limitada por el déficit hídrico independientemente de la condición lumínica, y la del promotor *PIF5* fue afectada por el déficit hídrico, con mayor impacto en luz blanca que en sombra.

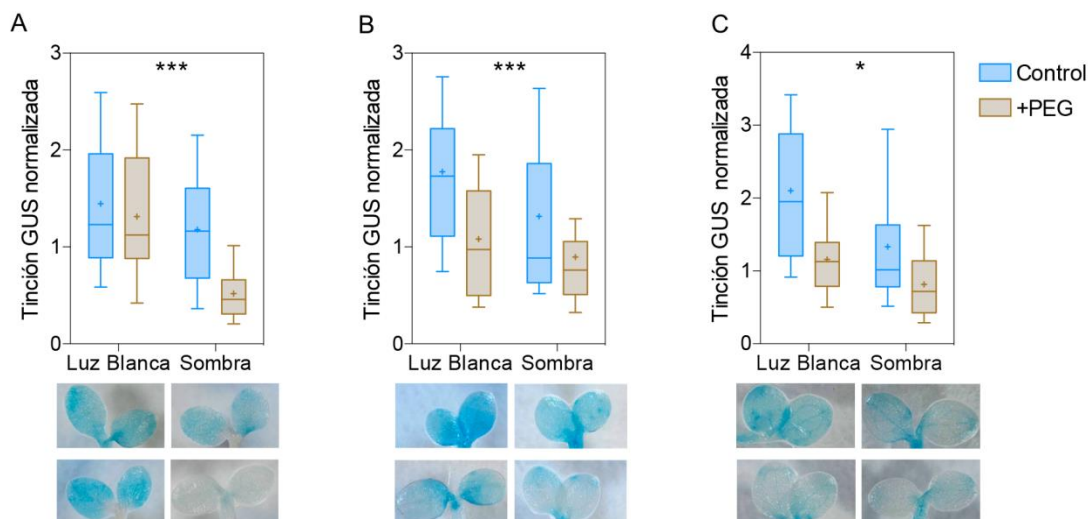


Figura R.12 – La disponibilidad hídrica afecta la actividad de promotores *PIF3*, *PIF4* y *PIF5* en cotiledones.

Actividad de los promotores *PIF3* (A), *PIF4* (B) y *PIF5* (C) en cotiledones luego de 4 h de tratamiento en sombra. Se muestran imágenes representativas para cada condición experimental.

Los gráficos corresponden a los datos de cuatro réplicas (cada réplica es una caja con al menos 6 plántulas). Se indica la significancia de la interacción entre los efectos de condición hídrica y lumínica (A y C), o el efecto principal de condición hídrica (B) (* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$).

El efecto de la disponibilidad hídrica sobre la actividad del promotor *PIF4* fue analizado más detalladamente en experimentos independientes, midiendo bioluminiscencia de una línea reportera *pPIF4::LUC*. En estos ensayos se registra luminiscencia desde una vista superior, de modo que (y considerando que un porcentaje mayoritario del tejido aéreo en plántulas de 4 d son los cotiledones) la señal corresponde mayormente a la actividad en los cotiledones. El tratamiento de restricción hídrica afectó la actividad del promotor *PIF4* en todos los puntos medidos del fotoperiodo (Figura R13 A). El efecto del déficit hídrico fue dependiente de la condición lumínica a las 2 y 10 h de fotoperiodo, e independiente a las 4, 6 y 8 h del fotoperiodo (Figura R13 A), mostrando un patrón general de respuesta similar al registrado por tinción histoquímica de actividad GUS. Además, ambos ensayos mostraron un efecto negativo del tratamiento de sombra sobre la actividad del promotor *PIF4*, indicando que las condiciones de sombreado ensayadas reprimen la expresión de *PIF4* en cotiledones. Los promotores *PIF3* y *PIF5* mostraron un patrón similar (Figura R12 A y C).

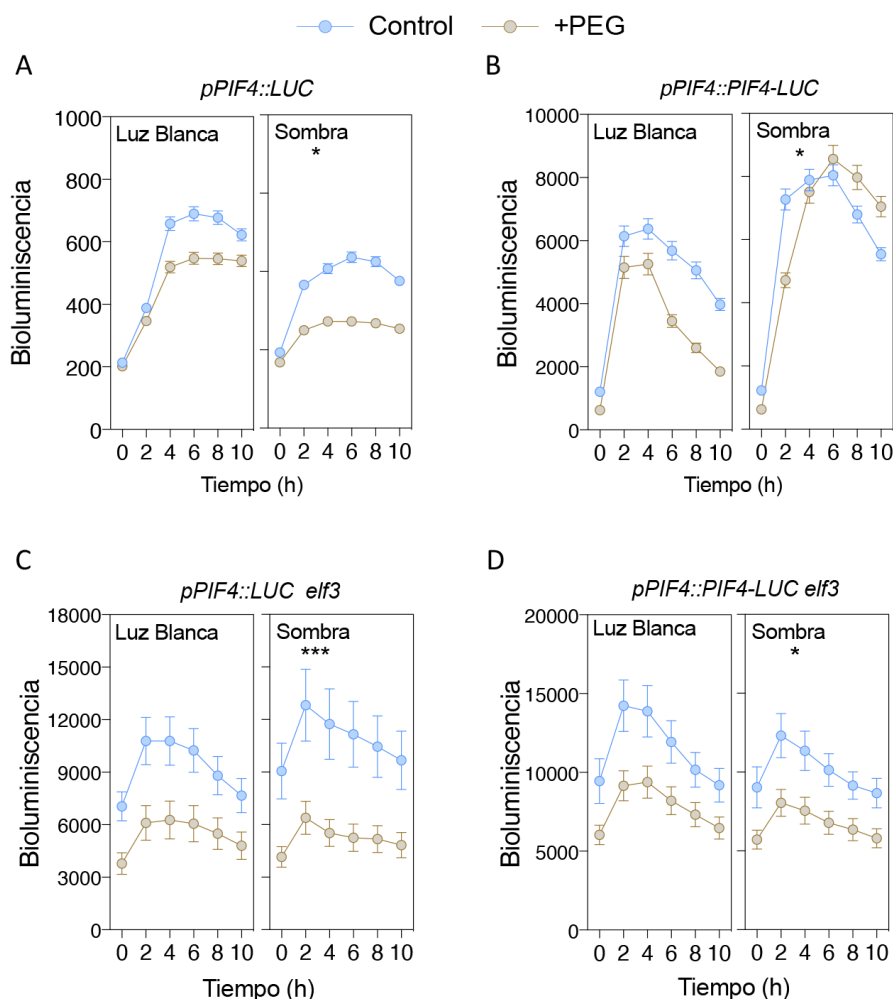


Figura R.13 - La disponibilidad hídrica afecta los perfiles de actividad del promotor y de acumulación proteica de *PIF4*.

- A. Intensidad de luminiscencia de la línea *pPIF4::LUC*.
 B. Intensidad de luminiscencia de la línea *pPIF4::PIF4-LUC*.
 C. Intensidad de luminiscencia de la línea *pPIF4::LUC* en fondo genético *elf3*.
 D. Intensidad de luminiscencia de la línea *pPIF4::PIF4-LUC* en fondo genético *elf3*.

Los datos corresponden a la media \pm E.E. de al menos 123 (A), 182 (B), 40 (C) Y 48 réplicas (D). El tratamiento de sombra se inició luego de la primera hora del fotoperiodo (1 h). En A y B se indica la significancia de la interacción entre condición hídrica y lumínica, correspondiente a 0, 2 y 10 h y a 2, 6, 8 y 10 h respectivamente. En C se indica la significancia de la interacción entre genotipo y condición hídrica, correspondiente a 6, 8 y 10 h. En D, se indica la significancia de la interacción entre genotipo condición, hídrica y condición lumínica, correspondiente a 2 h. (* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$)

Estos resultados indican que la restricción hídrica reprime la expresión de *PIF3*, *PIF4* y *PIF5* en los cotiledones, y son compatibles con la hipótesis de efectos directos de la disponibilidad hídrica sobre la vía de señalización de respuesta a sombreado. La menor expresión de *PIF3*, *PIF4* y *PIF5* podría llevar a una menor acumulación de las proteínas respectivas y, consecuentemente, a una atenuación de la señalización de la respuesta a plantas vecinas. Para evaluar esta hipótesis se midió la abundancia de PIF4 en cotiledones mediante bioluminiscencia en plántulas *pPIF4::PIF4-LUC* (Figura R13 B). Se corroboró el efecto promotor del tratamiento de sombreado sobre la acumulación de PIF4 (Lorrain et al., 2008). El tratamiento de restricción hídrica afectó el perfil temporal de acumulación de

PIF4 de manera dependiente de la condición lumínica. En luz blanca, tuvo un efecto inhibitorio durante todo el fotoperiodo. En condiciones de sombreado, en cambio, el efecto no fue constante sino que varió a lo largo del fotoperiodo. El déficit hídrico limitó la acumulación de PIF4 durante la primera mitad del fotoperiodo (0-4 h) pero la promovió durante la segunda mitad (6-10 h). El perfil de abundancia de PIF4 no siguió al de actividad del promotor (Figura R13 A), señalando que existen mecanismos de regulación postranscripcional específicos de las condiciones lumínicas y de disponibilidad hídrica involucrados en el control de la abundancia de PIF4.

ELF3 es un represor de la expresión de *PIF4* y *PIF5* y de la actividad de *PIF4* (Box et al., 2015; Ezer et al., 2017; Mizuno et al., 2014; Nieto et al., 2015; Sakuraba et al., 2017). La mutación *elf3* afectó el impacto de la disponibilidad hídrica sobre la respuesta de crecimiento (Figura R7), resultado compatible con un rol de *ELF3* en la regulación de la respuesta de crecimiento por disponibilidad hídrica y sombra. Para evaluar un posible rol de ELF3 en el control de la dinámica molecular de PIF4 en respuesta al déficit hídrico, se midió la actividad del promotor *PIF4* y la abundancia de PIF4 mediante bioluminiscencia en líneas *pPIF4::LUC* y *pPIF4::PIF4-LUC* en fondo genético mutante *elf3* (Figuras R13 C y D).

La mutación *elf3* afectó varios aspectos del perfil de actividad del promotor *PIF4* (Figura R13 C). En primer lugar, incrementó su actividad, corroborando el rol conocido de ELF3 como represor de la expresión de *PIF4*. En segundo lugar, eliminó el impacto de las señales de sombra sobre la actividad del promotor. Por último, acentuó el impacto del déficit hídrico sobre la actividad del promotor *PIF4* (reflejado en la significancia de la interacción entre los efectos de genotipo y condición hídrica), indicando que *ELF3* no media la represión de la expresión de *PIF4* por déficit hídrico.

A nivel de la abundancia de PIF4, la mutación *elf3* promovió los niveles de PIF4 y anuló la respuesta a sombreado (Figura R13D). En particular, la mutación *elf3* eliminó la promoción de los niveles de PIF4 por déficit hídrico durante la segunda mitad del fotoperiodo. Este resultado sugiere un rol de ELF3 en el control de la abundancia de PIF4 por condiciones hídricas y lumínicas.

También se midió la actividad del promotor y abundancia de ELF3 usando las líneas reporteras *pELF3::LUC* y *pELF3::ELF3-LUC* (Figura R14). La actividad del promotor *ELF3* fue afectada por el tratamiento de disponibilidad hídrica únicamente en sombra (Figura R14 A). En cambio, la abundancia de ELF3 fue limitada por el tratamiento de déficit hídrico independientemente de la condición lumínica, y su impacto fue mayor en las

últimas horas del fotoperiodo (Figura 14B). El marcado incremento en la abundancia de ELF3 hacia el final del día coincidió con la caída en la abundancia de PIF4 en condiciones control de disponibilidad hídrica, mientras que la represión del incremento de ELF3 por déficit hídrico coincidió con el incremento en los niveles de PIF4 durante las últimas horas del fotoperiodo específicamente en sombra (Figura R13 B). Es decir, la menor abundancia de ELF3 hacia el final del fotoperiodo por déficit hídrico permitiría el incremento en la abundancia de PIF4.

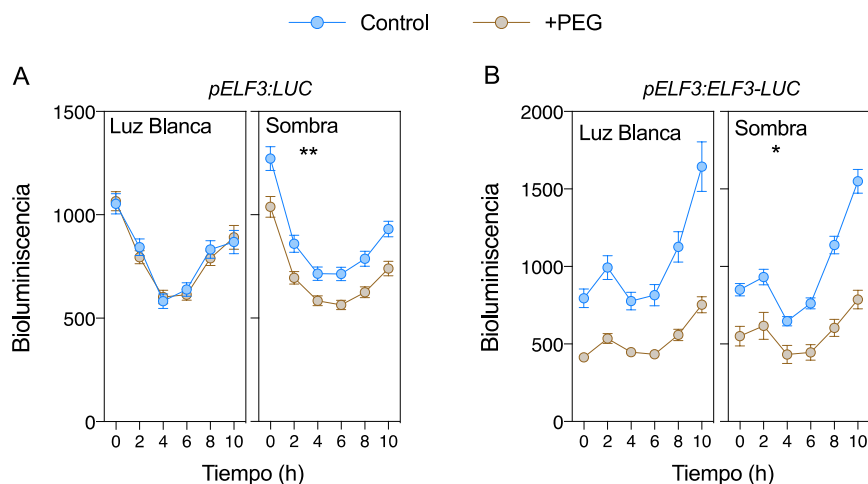


Figura R.14 – La disponibilidad hídrica afecta la dinámica molecular de ELF3.

A. Intensidad de luminiscencia de la línea pELF3::LUC. Los datos corresponden a la media \pm E.E. de al menos 18 réplicas.

B. Intensidad de luminiscencia de la línea pELF3::ELF3-LUC. Los datos corresponden a la media \pm E.E. de al menos 32 réplicas.

El tratamiento de sombra se inició luego de la primera hora del fotoperiodo. Se indica la significancia de la interacción entre condiciones hídricas y lumínicas, correspondiente a las 4 y 6 h (A) y 4 h (B) (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$).

PIF4 es un represor de la expansión foliar (Huq & Quail, 2002), mientras que ELF3, en cambio, es un regulador positivo de la expansión foliar (López-Salmerón, 2013; Nieto et al., 2015). Una respuesta de aclimatación al estrés hídrico es la represión de la expansión foliar. El incremento en la abundancia de PIF4 durante la segunda mitad del fotoperiodo y los bajos niveles de ELF3 podrían limitar la expansión de los cotiledones en restricción hídrica. Se evaluó el rol de PIF4 y ELF3 en el impacto del déficit hídrico sobre la represión de la expansión de los cotiledones por sombra en dos tiempos de tratamiento (9h y 2,5 d en sombra, Figuras R15 A y B respectivamente), midiendo tasa de expansión de los cotiledones en el primer caso, y área total en el segundo caso.

Los resultados presentados son preliminares pues corresponden a un único experimento. El tratamiento de sombra reprimió rápidamente la expansión de los cotiledones de manera dependiente de PIF4 (Figura R15 A, condición lumínica * PIF4 $p < 0,0001$). En

cambio, el déficit hídrico no afectó la expansión de los cotiledones en el tiempo corto de tratamiento (Figura R15 A; efecto principal de condición hídrica e interacciones N.S.), contrastando con el efecto rápido y fuerte que se observó a nivel del hipocotilo (Figuras R3, R5, R6 y R7). El déficit hídrico reprimió la expansión de los cotiledones independientemente de las condiciones lumínicas y de los genotipos analizados a más largo plazo (Figura R15 B, condición hídrica $p < 0,001$, interacción N.S.). Estos resultados indican que la disponibilidad hídrica no modula el crecimiento de los cotiledones a través de PIF4 y ELF3, como sí ocurre en el hipocotilo.

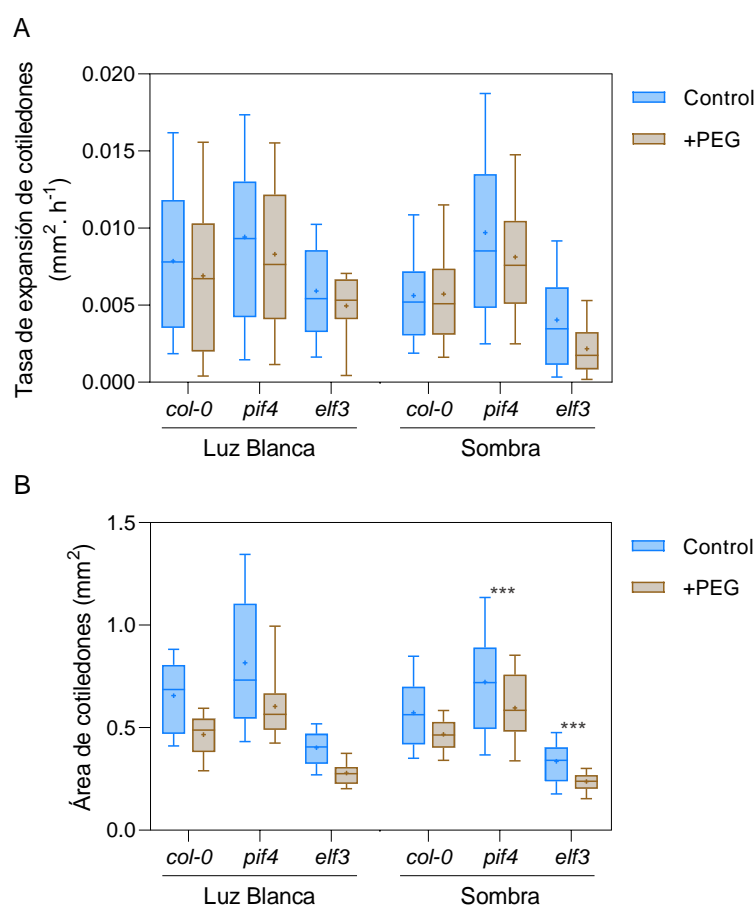


Figura R.15 - El déficit hídrico afecta la respuesta de expansión de cotiledones.

- A. Tasa de expansión de los cotiledones en 9h de tratamiento de sombra simulada. Los datos corresponden a la media \pm E.E. de al menos 5 réplicas (cada réplica es una caja con al menos 6 plántulas medidas).
- B. Área de los cotiledones luego de 2,5 d de tratamiento de sombra simulada. Los datos corresponden a la media \pm E.E. de al menos 5 réplicas (cada réplica es una caja con al menos 6 plántulas medidas). Se indica la significancia del efecto principal de la condición hídrica (***) $p < 0,001$.

CAA1 y LHY inducen la expresión de *PIF4* mediante el reclutamiento de SHB1, un promotor de la transcripción, a su región promotora (Sun et al., 2019). *CCA1* y *LHY* controlan el perfil diario de sensibilidad a señales de sombra (Sellaro et al., 2012), y

mutantes en *cca1* y *lhy* son hipersensibles a estrés osmótico y salino en la respuesta germinativa (Kant et al., 2008). Se evaluó la actividad de los promotores *CCA1* y *LHY* en ensayos de bioluminiscencia con las líneas reporteras *pCCA1::LUC* y *pLHY::LUC* (Figura R16), ya que esto podría explicar el efecto de la disponibilidad hídrica sobre la expresión de *PIF4*. El déficit hídrico reprimió la actividad de los promotores *CCA1* y *LHY*. El efecto fue independiente de la condición lumínica para *CCA1*, y mayor en condiciones control para *LHY*. Estos resultados, aunque preliminares, son compatibles con que *CCA1* y *LHY* medien la menor expresión de *PIF4* en condiciones de escasez hídrica.

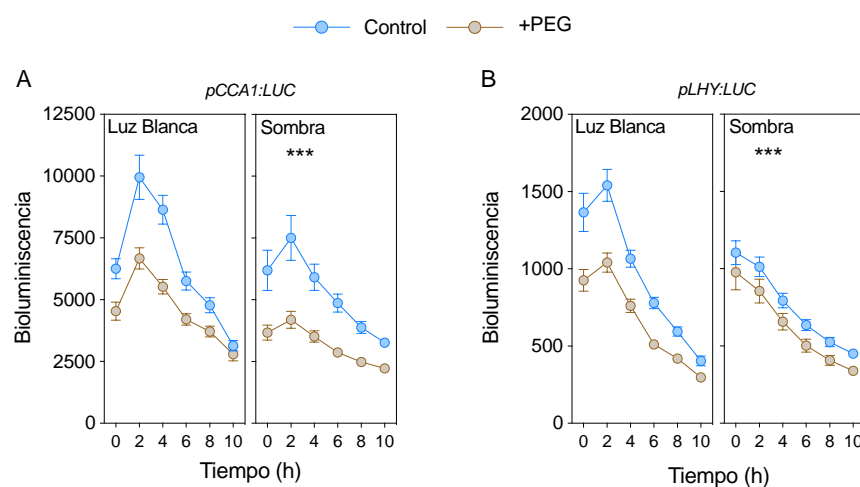


Figura R.16 – La disponibilidad hídrica afecta la actividad de los promotores *CCA1* y *LHY*.

A. Intensidad de luminiscencia de la línea *pCCA1::LUC*.

B. Intensidad de luminiscencia de la línea *pLHY::LUC*.

El tratamiento de sombra se inició luego de la primer hora del fotoperiodo. Los datos corresponden a la media \pm E.E. de al menos 12 réplicas. Se indica la significancia del efecto principal de condición hídrica (A) y de la interacción entre los efectos de las condiciones hídricas y lumínicas (B) (***) ($p < 0,001$).

HFR1 inhibe la actividad de *PIF4* y *PIF5* mediante la formación de heterodímeros no funcionales, que impiden su pegado al ADN. En sombra, *PIF4* y *PIF5* promueven la expresión de *HFR1* mientras que *COP1* reprime la acumulación de *HFR1*. Por lo tanto, los niveles de *HFR1* en sombra son menores que en luz blanca. La actividad del promotor *HFR1* no fue afectada por el tratamiento de disponibilidad hídrica (Figura R11 B). Este resultado es compatible con un posible rol de *HFR1* en la regulación de la actividad de *PIF4* en déficit hídrico. Para evaluar esta hipótesis, se midió la abundancia de *HFR1* mediante un ensayo de bioluminiscencia, usando una línea *p35S::HFR1-LUC* (Figura R17). El tratamiento de restricción hídrica limitó la abundancia de *HFR1* independientemente de la condición lumínica a lo largo de todo el fotoperiodo. Dado que *HFR1* es un represor del crecimiento por su acción negativa sobre los *PIFs* (Hornitschek et al., 2009), la menor

abundancia de HFR1 no contribuiría a la restricción de la respuesta al sombreado por la sequía.

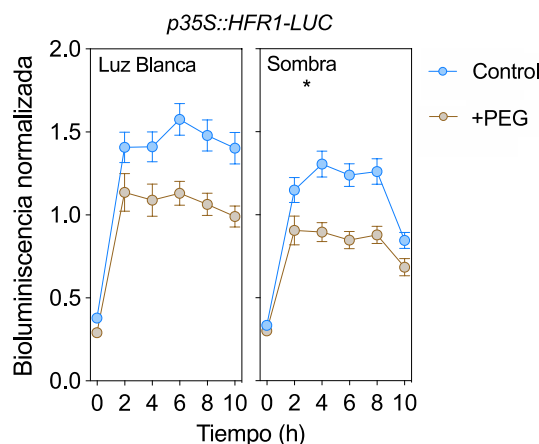


Figura R.17 – La disponibilidad hídrica afecta la abundancia de HFR1.

Intensidad de luminiscencia normalizada de la línea *p35S::HFR1-LUC*. El tratamiento de sombra se inició luego de la primera hora del fotoperíodo. Los datos corresponden a la media \pm E.E. de al menos 81 réplicas. Se indica la significancia del efecto de condición hídrica (* $p < 0,05$).

Los resultados de esta sección señalan que el déficit hídrico afecta específicamente la regulación transcripcional y/o postranscripcional de componentes importantes en la promoción y represión de la respuesta a plantas vecinas como *PIF3*, *PIF4*, *PIF5*, y son consistentes con la hipótesis que postula efectos directos de la disponibilidad hídrica sobre la vía de señalización del escape al sombreado. También se ve afectada la dinámica de ELF3 y HFR1, pero estos cambios no contribuirían de manera directa al impacto negativo de la sequía sobre la promoción del crecimiento del hipocotilo por sombra.

La disponibilidad hídrica afecta los niveles de señalización de auxinas en el hipocotilo

Para evaluar la señalización por auxinas se utilizó un sensor basado en el dominio DII de proteínas AUX/IAA, necesario para su reconocimiento por el complejo SCF^{TIR1/AFB1-5} y rápida degradación promovida por auxinas (Figura R18). Mayor señal de fluorescencia nuclear de la línea reportera *35S::DII-Venus-NLS* se corresponde con niveles menores de auxinas y/o una menor sensibilidad a los niveles de auxina presentes. La señal del sensor de auxinas fue marcadamente menor en sombra que en luz blanca, corroborando la respuesta de fuerte incremento en la concentración de esta hormona por señales de plantas vecinas (Procko et al., 2014; Procko et al., 2016; Tao et al., 2008). Independientemente de la condición lumínica, el déficit hídrico disminuyó la acumulación de auxinas en las células del hipocotilo.

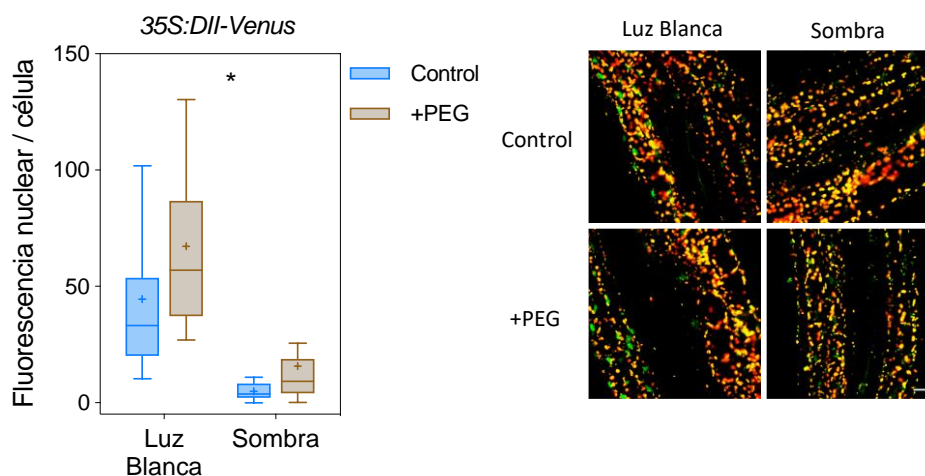


Figura R.18 - El déficit hídrico afecta la señalización de auxinas.

Intensidad de fluorescencia nuclear por célula de la línea reportera 35S::DII-Venus-NLS, en epidermis y subepidermis de la porción superior del hipocotilo, luego de 4 h de tratamiento de sombra simulada. Los datos corresponden a 6 réplicas (cada réplica es una caja con al menos 3 plántulas). Se indica la significancia del efecto principal de condición hídrica (* $p < 0,05$). Se muestran imágenes representativas para cada condición experimental.

La respuesta de elongación por señales de plantas vecinas requiere de la interacción cotiledón-hipocotilo, pero también depende de procesos de señalización que ocurren a nivel del hipocotilo y son mediados por PIF4 y PIF5 (Kohnen et al., 2016; Procko et al., 2016; Zheng et al., 2016). Para evaluar los efectos del déficit hídrico sobre la vía de señalización de la respuesta a sombreado específicamente en el hipocotilo, se analizaron distintos aspectos de la dinámica molecular de componentes importantes de la vía mediante el análisis por microscopía confocal de líneas reporteras.

La dinámica nuclear de PHYB es independiente de la disponibilidad hídrica

Un elemento que se analizó en particular por su importancia en la regulación de las respuestas a las señales de plantas vecinas fue phyB. En el análisis de la respuesta de crecimiento, la mutación *phyB* afectó el impacto del déficit hídrico en la respuesta de crecimiento (Figura R7). La actividad de phyB correlaciona con su ubicación nuclear y distribución en cuerpos nucleares grandes (Legris et al., 2019). La distribución de tamaño de estos corpúsculos cambia dinámicamente en respuesta a señales lumínicas y de temperatura. En el pasaje a condiciones de bajo R/RL, baja irradiancia o alta temperatura, phyB se desplaza hacia su conformación inactiva y su distribución cambia a cuerpos pequeños (Jung et al., 2016; Legris et al., 2016; Trupkin et al., 2014). Se evaluó la respuesta de cambio en el tamaño de cuerpos nucleares de phyB a fin de establecer si la disponibilidad hídrica afecta su dinámica y actividad (Figura R19). El tamaño promedio de los cuerpos nucleares de phyB fue marcadamente menor en el tratamiento de

sombreado, corroborando la respuesta conocida (Trupkin et al., 2014). El tratamiento de déficit hídrico no afectó el tamaño de los cuerpos nucleares en ninguna condición lumínica ensayada, indicando que la dinámica de phyB es independiente de la disponibilidad hídrica. Es decir, el déficit hídrico no comprometería de manera obvia la percepción de señales de plantas vecinas, sino que afecta la respuesta de escape al sombreado mediante la acción sobre componentes aguas abajo de phyB.

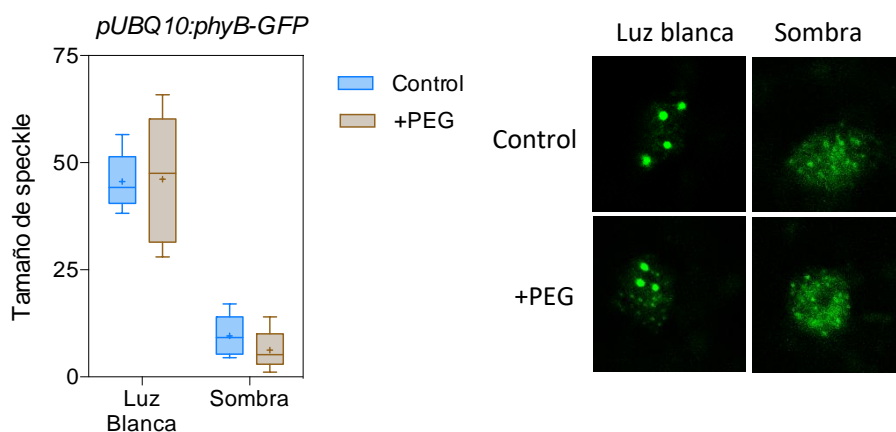


Figura R.19 – La disponibilidad hídrica no afecta la dinámica nuclear de phyB. Tamaño promedio de cuerpos nucleares de phyB tras 4 h de tratamiento de sombra simulada. Los datos corresponden a 5 réplicas (cada réplica es una caja con al menos 3 plántulas medidas). Se muestran imágenes representativas de cada condición experimental.

La disponibilidad hídrica modula la expresión y acumulación de PIFs en el hipocotilo

Se evaluó la actividad de los promotores *PIF3*, *PIF4* y *PIF5* en el hipocotilo mediante el análisis de tinción histoquímica en las líneas reporteras *pPIF3::GUS*, *pPIF4::GUS* y *pPIF5::GUS* (Figura R20). El tratamiento de sombra promovió la actividad de los tres promotores, cuantificada en todo el hipocotilo, mientras que el déficit hídrico limitó el efecto promotor del sombreado.

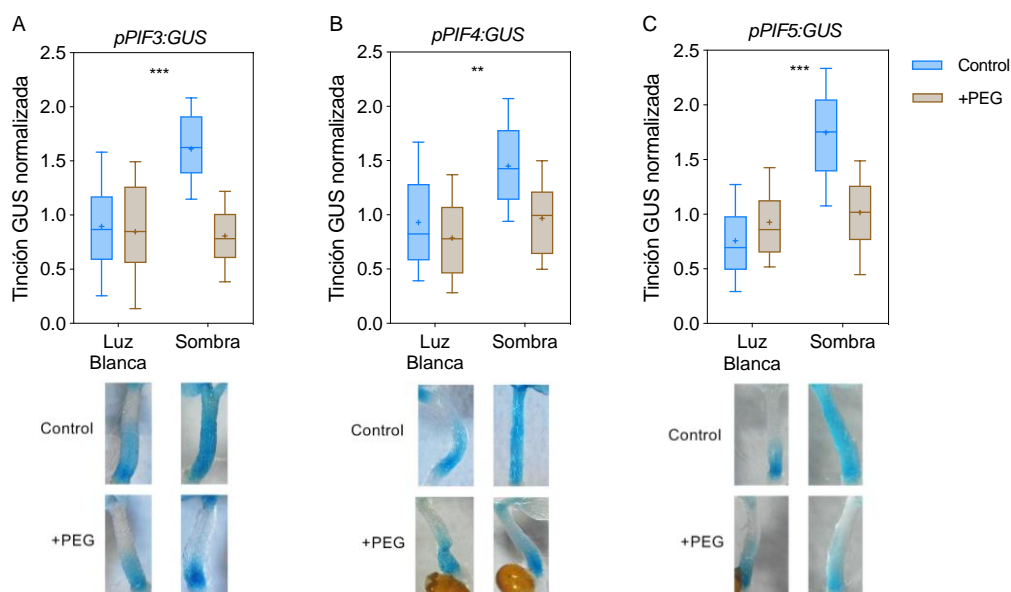


Figura R.20 – La disponibilidad hídrica afecta la actividad de los promotores *PIF3*, *PIF4* y *PIF5* en el hipocotilo. Actividad de los promotores *PIF3* (A), *PIF4* (B) y *PIF5* (C) normalizada en el hipocotilo de plántulas luego de 4 h de tratamiento en sombra. Se muestran imágenes representativas para cada condición experimental. Se muestran datos de 4 réplicas independientes (cada réplica es una caja con al menos 6 plántulas medidas). Se indica la significancia de la interacción entre condición hídrica y lumínica (** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

Además se evaluó la acumulación de *PIF4* en células epidérmicas y subepidérmicas del hipocotilo mediante microscopía confocal utilizando una línea reportera *pPIF4::PIF4-GFP* (Figura R21). Se corroboró el incremento en abundancia nuclear de *PIF4* en respuesta al tratamiento de sombreado (Pucciariello et al., 2018). El déficit hídrico no afectó los niveles de *PIF4* en luz blanca, pero sí limitó el impacto de la sombra en la respuesta de acumulación nuclear de *PIF4*, indicando que el efecto de la disponibilidad hídrica sobre la dinámica molecular de *PIF4* en el hipocotilo depende mayormente de la condición lumínica.

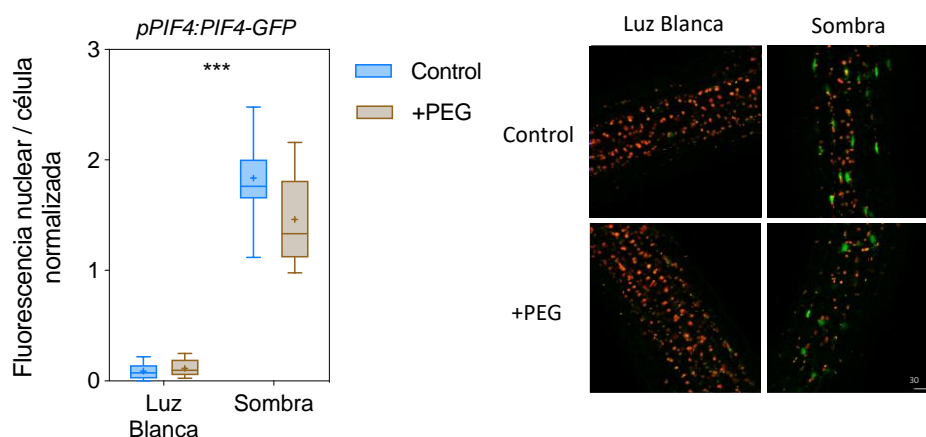


Figura R.21 - La disponibilidad afecta los niveles nucleares de *PIF4* en respuesta al sombreado. Intensidad de fluorescencia nuclear por célula normalizada a cada experimento de la línea reportera *pPIF4::PIF4-GFP* luego de 4 h de tratamiento de sombreado. Las imágenes se tomaron en la epidermis y subepidermis de la porción superior del hipocotilo. Los datos corresponden a al menos 19 réplicas (cada réplica es una caja con al menos 3 plántulas). Se indica la significancia de la interacción entre condición lumínica y condición hídrica (***) $p < 0,001$). Se muestran imágenes representativas de cada tratamiento.

La disponibilidad hídrica no afecta la abundancia nuclear de HY5

HY5 actúa en forma antagónica a los PIFs, reprimiendo la repuesta de elongación. Participaría en la integración de señales lumínicas con el control de respuestas de tolerancia a salinidad (Kovács et al., 2019). En las condiciones evaluadas, el mutante *hy5* afectó el impacto del déficit hídrico en el efecto de la condición lumínica sobre la repuesta de crecimiento (Figura R7). Este resultado es compatible con una regulación de HY5 por la condición hídrica. Para evaluar si la disponibilidad hídrica afecta la dinámica de HY5, se analizó la acumulación nuclear de HY5 en repuesta a los tratamientos de sombra y restricción hídrica usando la línea reportera *p35SHY5::HY5-YFP* (Figura R22). La abundancia nuclear de HY5 no fue afectada por la disponibilidad hídrica.

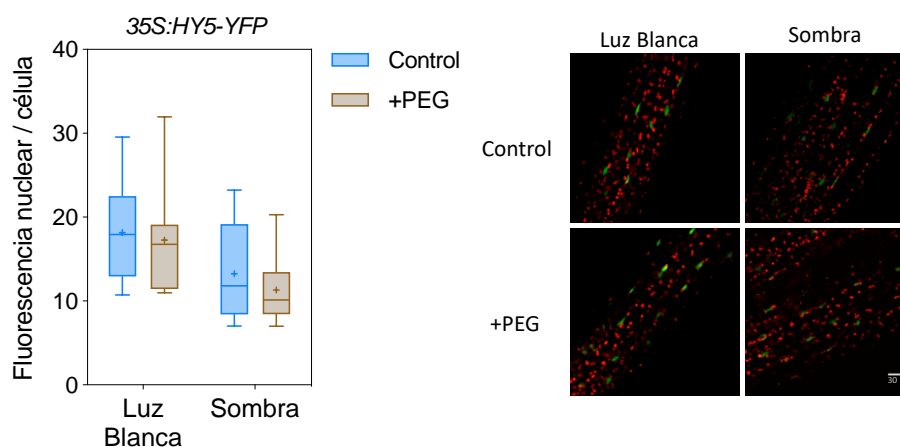


Figura R.22 – La disponibilidad hídrica no afecta la abundancia nuclear de HY5.

Intensidad de fluorescencia nuclear por célula de la línea reportera *pHY5::HY5-YFP*, a las 4 h del tratamiento de sombra. Las imágenes se tomaron en la epidermis y subepidermis de la porción superior del hipocotilo. Los datos corresponden a 7-8 réplicas (cada réplica es una caja con al menos 3 plántulas). Se muestran imágenes representativas de cada tratamiento.

ARF6 en la repuesta de crecimiento

Los genes *ARFs* tienen un rol central en el control de respuestas a auxinas. ARF6 y ARF8 pueden actuar como co-activadores de PIF4 (Oh et al., 2014). Los ARFs pueden actuar como promotores o represores de la transcripción según se asocien al ADN en forma de complejos con otras proteínas ARFs (promoción) o con proteínas AUX/IAA (represión) (Salehin et al., 2015). En las condiciones evaluadas, la repuesta de crecimiento del mutante *arf6* indicó que ARF6 promovería el crecimiento (Figura R7). Además, el tratamiento de restricción hídrica acentuó el fenotipo de crecimiento deficiente del mutante (Figura R7), señalando un posible rol de *ARF6* en el control del crecimiento por disponibilidad hídrica en sombra. Para profundizar este análisis, se evaluó la repuesta de elongación en los dobles mutantes *arf6 arf7* y *arf6 arf8* (Figura R23). Las mutaciones *arf7*

y *arf8* no tuvieron efecto en el fondo genético *arf6*. Una posible interpretación de este resultado es que *ARF6* sea el principal *ARF* en el control de la respuesta de crecimiento en las condiciones ensayadas.

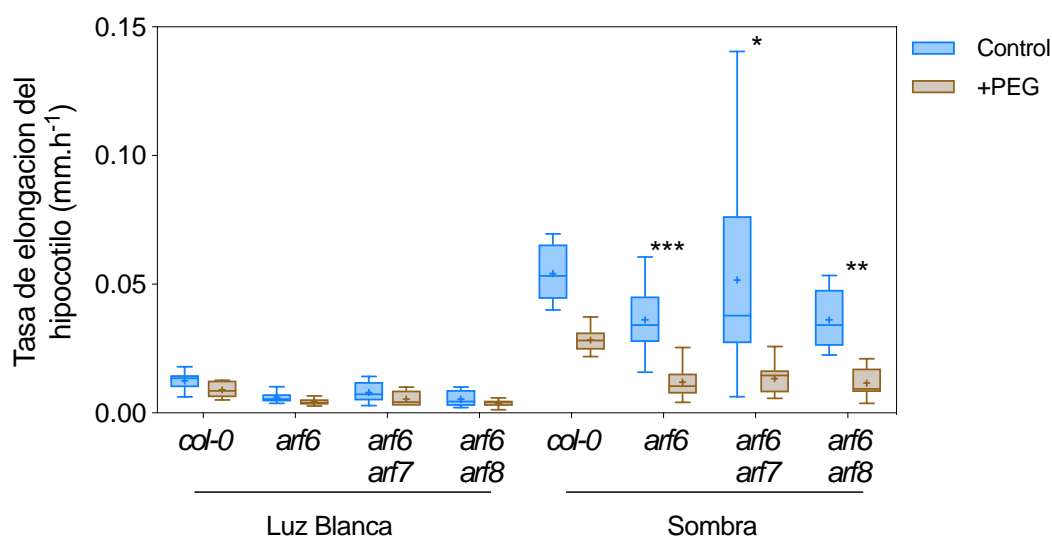


Figura R.23 - Respuesta de crecimiento en los mutantes *arf6*, *arf6 arf7* y *arf6 arf8*.

Tasa de elongación del hipocotilo en 9 h de tratamiento de sombra simulada. Los diagramas de caja y bigote se construyeron con datos de 6-14 réplicas. Se indica la significancia de la interacción entre condición hídrica y genotipo (*arf6*, *arf6 arf8*), y entre condición hídrica, lumínica y genotipo (*arf6 arf7*) (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

Se determinó la abundancia de *ARF6* en los tratamientos de sombra y déficit hídrico usando la línea reportera *pARF6::ARF6-GFP* (Figura R24). El tratamiento de restricción hídrica promovió la acumulación de *ARF6* en sombra. El incremento en los niveles de *ARF6* por restricción hídrica en sombra no contribuiría de manera directa a explicar la reducción de la respuesta al sombreado por sequía.

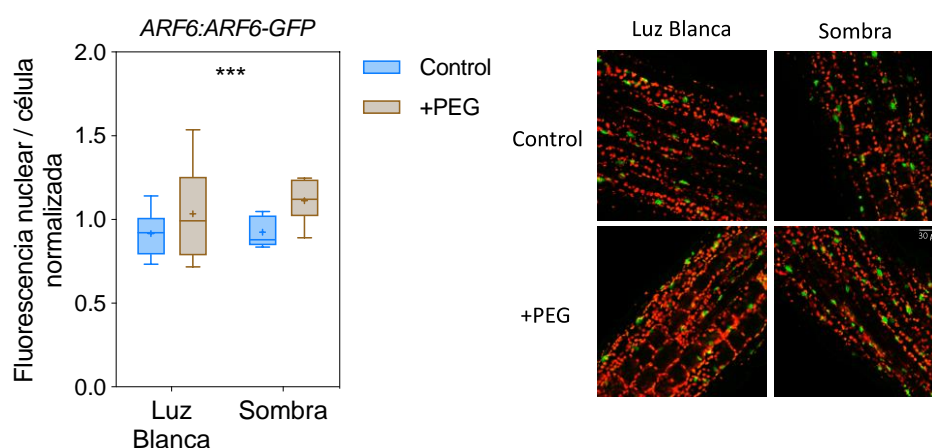


Figura R.24 - La disponibilidad hídrica modula los niveles de *ARF6* en sombra.

Intensidad de fluorescencia nuclear por célula normalizada de la línea reportera *ARF6::ARF6-GFP* a las 4 h del tratamiento de sombra, en epidermis y subepidermis de la porción superior del hipocotilo. Los datos corresponden a 5-6 réplicas (cada réplica es una caja con al menos 3 plántulas). Se indica la significancia de la interacción entre los efectos de las condiciones lumínicas e hídricas (*** $p < 0,001$). Se muestran imágenes representativas para cada condición experimental.

La disponibilidad hídrica no afecta la abundancia nuclear de ELF3

En base a los resultados previos, que mostraron un control de la expresión y abundancia de ELF3 en cotiledones por disponibilidad hídrica (Figura R16), se decidió evaluar si los tratamientos de sombra y restricción hídrica afectan la acumulación de ELF3 en el hipocotilo usando la línea reportera *p35S::ELF3-YFP* (Figura R25). Como ELF3 se encuentra bajo regulación circadiana, se tomaron imágenes a las 4, 10 y 16 h durante el día de tratamiento en sombra, a fin de cubrir tiempos representativos de distintos momentos del fotoperíodo. El tratamiento de déficit hídrico no afectó la acumulación de ELF3 en el hipocotilo en ninguno de los momentos evaluados. Este resultado se contrapone al efecto observado en cotiledones (Figura R14). Una posible interpretación es que existirían mecanismos órgano-específicos en la regulación de ELF3 por disponibilidad hídrica. Los resultados no sugieren un rol de ELF3 en la inhibición de la expresión de *PIF4* en células del hipocotilo.

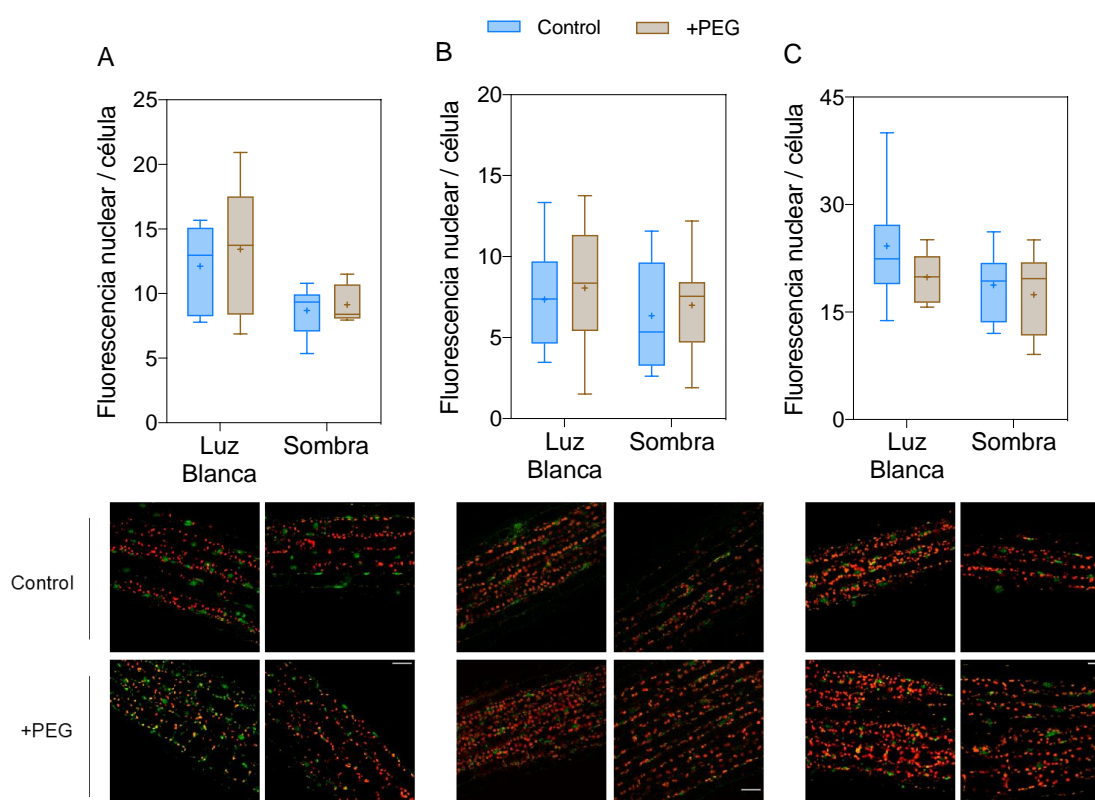


Figura R.25 - La disponibilidad hídrica no afecta la abundancia de ELF3 en el hipocotilo.

Intensidad de fluorescencia nuclear en células del hipocotilo de la línea reportera *35S::ELF3-YFP* a las 4 (A), 10 (B) y 16 h (C) del fotoperíodo. Las imágenes se tomaron en la epidermis y subepidermis de la porción superior del hipocotilo. Los datos corresponden a al menos 6 (A), 9 (B) y 12 (C) réplicas. Se muestran imágenes representativas de cada tratamiento. La barra de escala corresponde a 30 μm.

La disponibilidad hídrica afecta la acumulación nuclear de RGA

Las DELLAs, en particular GAI y RGA, modulan la actividad de PIF3, PIF4 y PIF5 mediante interacción directa (de Lucas et al., 2008; S. Feng et al., 2008; K. Li et al., 2016). Esta regulación es importante en el control del patrón diario de crecimiento del hipocotilo. La actividad de las DELLAs también ha sido vinculada al control del crecimiento en respuesta a condiciones de estrés abiótico (Achard et al., 2006; Chen et al., 2019; Colebrook et al., 2014; Geng et al., 2013; Shahnejat-Bushehri et al., 2016). Se evaluó la respuesta de acumulación nuclear de RGA, una de las principales DELLAs en el control del crecimiento por señales de plantas vecinas, mediante microscopía confocal de la línea reportera *pRGA::RGA-GFP* (Figura R26). El déficit hídrico limitó el efecto inhibitorio de la sombra sobre la acumulación nuclear de RGA por sombra. Este resultado es compatible con un rol de RGA en la represión de la actividad y acumulación de PIF4 por déficit hídrico en sombra. Sin embargo, el análisis de la respuesta de crecimiento en el cuádruple mutante *gai rga rgl1 rgl3* no sustenta esta hipótesis (Figura R7), pues no afectó el impacto del déficit hídrico sobre la respuesta de crecimiento. Asimismo, la línea *pRGA::GFP-(rga-Δ17)*, que expresa una versión mutante de RGA resistente a GA, retuvo parte de la respuesta de inhibición del crecimiento por déficit hídrico (Figura R27).

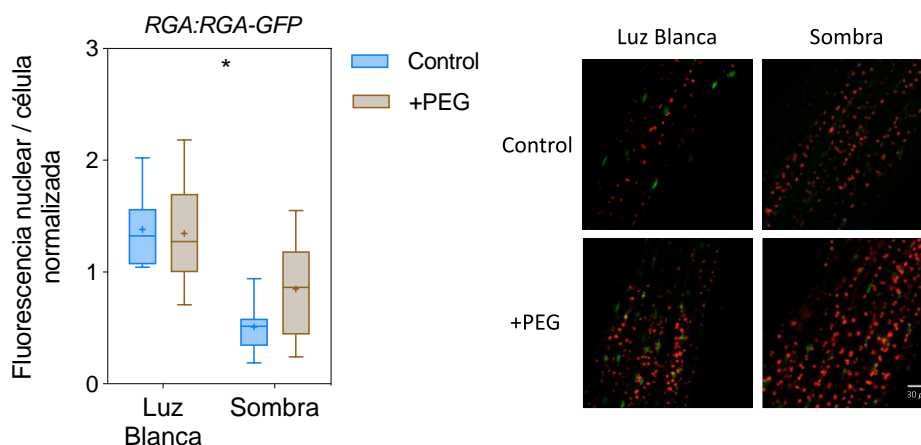


Figura R.26 - La disponibilidad hídrica limita el impacto de la sombra en los niveles de RGA.

Intensidad de fluorescencia nuclear por célula normalizada de la línea reportera *RGA::RGA-GFP* luego de 4 h de tratamiento en sombra. Las imágenes se tomaron en la epidermis y subepidermis de la porción superior del hipocotilo. Los datos corresponden a 14 réplicas (cada réplica es una caja con al menos 3 plántulas). Se indica la significancia del efecto interacción entre las condiciones hídricas y lumínicas (* $p < 0,05$). Se muestran imágenes representativas de cada condición experimental.

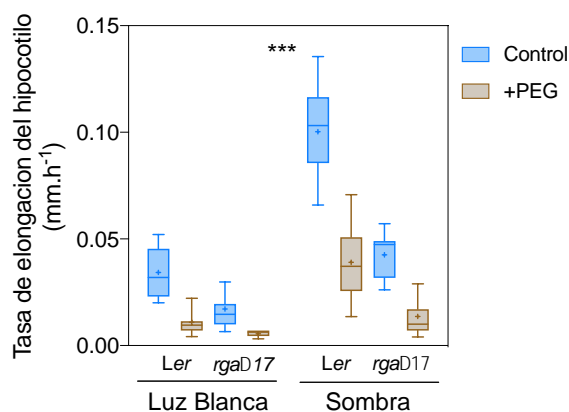


Figura R.27 – El mutante *rga-Δ17* no limita el impacto del déficit hídrico en la respuesta a sombra. Tasa de elongación del hipocotilo en 9 h de tratamiento de sombreado. Los datos corresponden a 8 réplicas (cada réplica es una caja con al menos 3 plántulas medidas). Se indica la significancia de la interacción entre los efectos de genotipo, condición hídrica y condición lumínica (***) ($p < 0,001$).

Los resultados muestran que la disponibilidad hídrica modula la dinámica de la señalización aguas abajo de *phyB* en el hipocotilo, sin afectar la percepción de las señales de plantas vecinas por este receptor (Figura R19). La expresión y acumulación de PIF4 es modulada por disponibilidad hídrica y por señales de plantas vecinas a nivel de los cotiledones y del hipocotilo mediante mecanismos específicos en cada órgano. La regulación por estas dos señales se corresponde con el patrón de crecimiento del hipocotilo, pero no de los cotiledones, donde PIF4 media el efecto de la sombra pero no el del déficit hídrico. La actividad de PIF4 en los cotiledones modularía la síntesis de auxina en este órgano, regulando la señal que llega al hipocotilo, que además sería atenuada en este órgano por la inhibición de los PIFs en déficit hídrico. Los resultados exponen puntos de integración de señales hídricas y lumínicas para el ajuste del patrón de crecimiento en condiciones ambientales complejas.

Regulación postranscripcional de PIF4 por disponibilidad hídrica

Dos resultados indicaron que la disponibilidad hídrica regularía los niveles de PIF4 mediante mecanismos postranscripcionales. Por un lado, el perfil de acumulación de proteína PIF4 fue diferente al del actividad del promotor *PIF4* (Figuras R13 A y B). Por otro lado, la sobre-expresión de PIF4 o PIF5 no recuperó la respuesta de elongación en condiciones de déficit hídrico (Figura R7). A partir de estas evidencias se decidió analizar el impacto del déficit hídrico sobre la abundancia de PIF4 (independientemente de su regulación transcripcional) en el hipocotilo. En este análisis también se indagó el posible rol de las quinasas PPK1-4 y BIN2, pues distintos antecedentes las vinculan con la regulación de distintas respuestas a estrés osmótico (Jiang et al., 2019; Nolan et al., 2017) e, independientemente, con la regulación postranscripcional de diferentes miembros de

la familia PIF (Bernardo-García et al., 2014; Ni et al., 2017a). Se cuantificó la acumulación de PIF4 en la línea reportera *p35S::PIF4-GFP* en fondo genético salvaje (*col-0*), y en los fondos genéticos *bin2* (expresa una variante estable de BIN2; Li et al., 2001; Peng et al., 2008), y *ami^{4K}* (línea transgénica que expresa dos microRNAs artificiales que inducen el silenciamiento de PPK1-4; Liu et al., 2017) (Figura R28). El tratamiento de sombra promovió la acumulación de PIF4, y el déficit hídrico limitó esta respuesta en el fondo genético salvaje, indicando que la estabilidad de PIF4 es regulada por las condiciones hídricas y lumínicas, además de su expresión. En el fondo del mutante de ganancia de función *bin2*, la forma estable de BIN2 limitó la respuesta de abundancia nuclear de PIF4 en condiciones control de disponibilidad hídrica, confirmando el rol de BIN2 como regulador negativo de PIF4, pero además invirtió el efecto del déficit hídrico. En el fondo *ami^{4K}*, el silenciamiento de *PPK1-4* acentuó la acumulación de PIF4 suprimiendo el efecto del déficit hídrico sobre la respuesta. Estos resultados indican que el déficit hídrico limita la acumulación nuclear de PIF4 en respuesta a sombra mediante un mecanismo postranscripcional que involucra a BIN2 y a al menos una de las cuatro PPK.

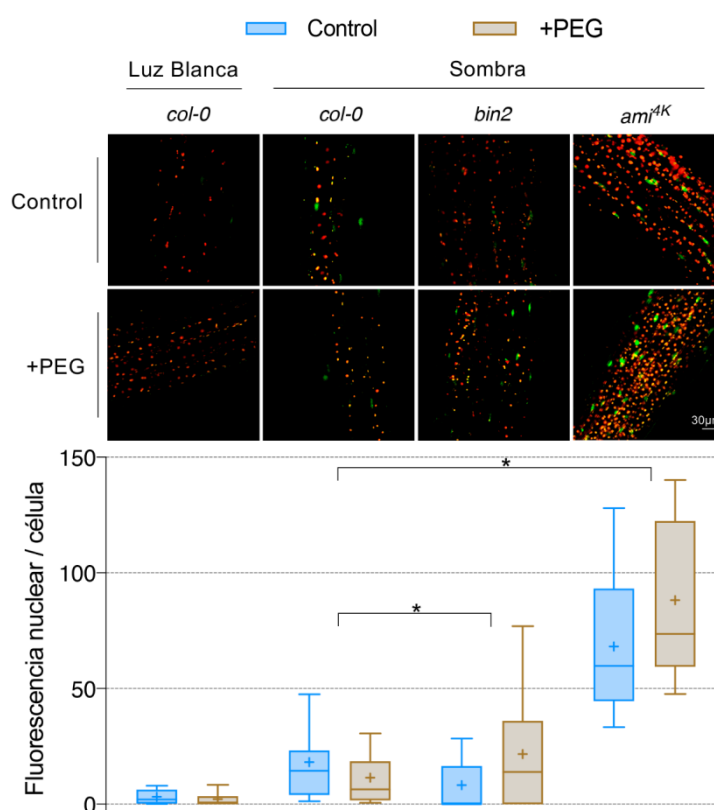


Figura R.28 – BIN2 y PPK1-4 participan en la regulación postranscripcional de PIF4 por déficit hídrico.

Intensidad de fluorescencia nuclear normalizada en células del hipocotilo de la línea reportera *p35S::PIF4-GFP* en fondo genético salvaje, *bin2* y *ami^{4K}* a las 4 h del tratamiento de sombra. Las imágenes se tomaron en la epidermis y subepidermis de la porción superior del hipocotilo. Se muestran datos de al menos 9 réplicas (cada réplica es una caja con al menos 3 plántulas medidas). Se indica la significancia de la interacción entre los efectos de genotipo, condición hídrica y lumínica (*bin2*), y de la interacción entre genotipo y condición hídrica (*ami^{4K}*) (* $p < 0,05$).

El efecto de ganancia de función BIN2 sobre la abundancia de PIF4 se correspondió con el patrón de crecimiento del hipocotilo de este mutante, que limitó la respuesta a sombra, y anuló el efecto déficit hídrico sobre esta respuesta (Figura R29). Los triples mutantes *ppk1 ppk2 ppk3* y *ppk1 ppk2 ppk4*, y la línea *ami^{4K}* mostraron menor respuesta a sombra y mayor sensibilidad al déficit hídrico que la línea salvaje, corroborando su fenotipo de crecimiento reducido e hipersensibilidad al estrés osmótico (Chen et al., 2018; Huang et al., 2016; Ni et al., 2017; Z. Wang et al., 2015; Zheng et al., 2018). Estas quinasas regulan la actividad y/o estabilidad de CCA1, RGA, ELF4, ELF3, cry2, PIF3, phyB y proteínas PYR/PYLs (Huang et al., 2016; Hu-hui Chen et al., 2018; Qing Liu et al., 2017; Ni et al., 2017b; Zheng et al., 2017). La menor respuesta de crecimiento no coincide con mayor acumulación de PIFs, sino que podría relacionarse a la menor degradación de phyB, a la desregulación de la represión de CCA1 por RGA y a la activación constitutiva de la vía de señalización del ABA observada en los mutantes *ppks*. Los resultados obtenidos en este trabajo indican que al menos una de las cuatro PPKs participan en la regulación de la acumulación nuclear de PIF4 en células del hipocotilo (Figura R28).

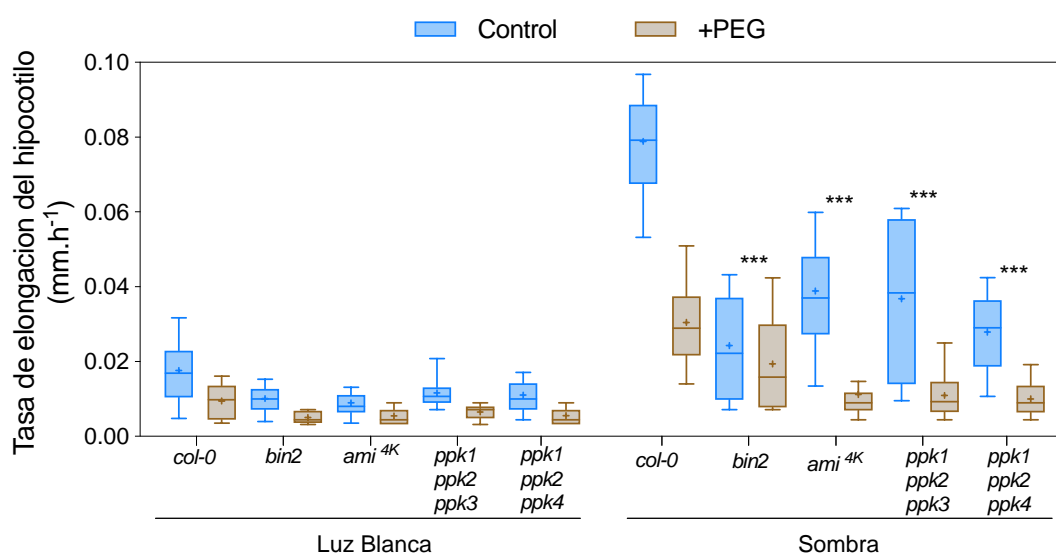


Figura R.29 – El mutante *bin2*, pero no los mutantes de PPKs, anula el efecto del déficit hídrico sobre la respuesta de crecimiento a sombra.

Tasa de elongación del hipocotilo en 9h de tratamiento de sombreado. Los datos corresponden a 8 réplicas (cada réplica es una caja con al menos 3 plántulas medidas). Para cada mutante, se indica la significancia de la interacción entre los efectos de genotipo, condición hídrica y condición lumínica (***) $p < 0,001$.

Discusión

La sequía limita la respuesta de elongación por señales de plantas vecinas

Los resultados de esta tesis demuestran que la escasez de agua limita la respuesta de elongación del tallo a las señales de plantas vecinas en el mediado (Figuras R1 y R2) y corto plazo (Figura R3), en distintas especies vegetales intolerantes a la sombra. Se propone que la sequía afecta la actividad de los PIFs, particularmente PIF4, limitando de ese modo la respuesta a sombreado. Las secciones siguientes presentan la evidencia a favor de esta explicación.

La sequía reduce la expresión de PIF3, PIF4 y PIF5

La restricción hídrica limitó la actividad de los promotores de los genes *PIF3*, *PIF4* y *PIF5* en los cotiledones (Figuras R12 y R13A) y en el hipocotilo (Figura R20). En todos los casos el efecto inhibitorio del déficit hídrico se manifestó en sombra, contexto en que la señalización por estos componentes es necesaria para la respuesta de elongación (Casal 2013; Fiorucci & Fankhauser, 2017; Roig-Villanova & Martínez-García, 2016). Estos resultados sustentan la hipótesis de efectos directos de la disponibilidad hídrica sobre la señalización de las respuestas al sombreado. Recientemente se ha demostrado que también las condiciones de estrés salino limitan las respuestas a señales de bajo R:RL (Hayes et al., 2019). Si bien estos dos tipos de estrés (escasez de agua y salinidad) tienen un efecto osmótico e impactan de manera semejante a la respuesta de elongación inducida por señales de plantas vecinas, esto no implica que las vías moleculares sean necesariamente compartidas. En efecto, se ha encontrado que la salinidad puede promover la expresión de PIF4 (Sakuraba et al., 2017) o no afectarla (Hayes et al., 2019). La salinidad genera efectos de toxicidad y de competencia de iones. La contribución de estos componentes podrían explicar las diferencias entre los efectos de los tratamientos de salinidad (Hayes et al., 2019; Sakuraba et al., 2017) y de déficit hídrico (esta tesis) sobre la expresión de *PIF4*. En este sentido, en arroz la expresión de *OsPIL1* también es reprimida por tratamientos de restricción hídrica pero no por tratamientos salinos o con ABA exógeno (Todaka et al., 2012). Otra consideración importante es que en esta tesis se analizó la actividad de los promotores *PIF4* y *PIF5* en órganos específicos y no en plántula entera.

A partir de antecedentes que vinculan a CCA1 y LHY con la inducción de la expresión de *PIF4* (Sun et al., 2019), con el control del patrón fotoperiódico de sensibilidad a señales de sombra (Sellaró et al., 2012), y dado el fenotipo de hipersensibilidad a estrés osmótico de

mutantes *cca1* y *lhy* (Kant et al., 2008), se postuló que CCA1 y LHY podrían mediar el efecto de la disponibilidad hídrica sobre la expresión de *PIF4*. A favor de esta idea, la sombra y el déficit hídrico reprimieron la expresión de *CCA1* y *LHY* (Figura R16). Esta caída en su expresión por déficit hídrico podría conducir a la menor inducción de la expresión de *PIF4* observada en esta tesis (Figuras R12, R13A y R20). Trabajos previos mostraron que tratamientos de estrés osmótico promueven la expresión de *TOC1* (Legnaioli et al., 2009). A su vez, TOC1 reprime la expresión de *CCA1* y *LHY* (Gendron et al., 2012). La estabilización de TOC1 en condiciones de restricción hídrica podría limitar la respuesta de elongación a través de la inhibición de la expresión de *CCA1* y *LHY*. Si bien el perfil de expresión y actividad de TOC1 no ha sido determinado en este trabajo, los resultados obtenidos son compatibles con la hipótesis planteada. Hasta el momento, no se había propuesto un rol de componentes del reloj biológico como integradores de señales lumínicas e hídricas.

Considerando que ELF3 regula a nivel transcripcional y de actividad a PIF4 (Box et al., 2015; Nieto et al., 2015; Nusinow et al., 2011; Sakuraba et al., 2014), se propuso que ELF3 podría mediar el efecto de la disponibilidad hídrica sobre la expresión de *PIF4* en cotiledones e hipocotilo. Sin embargo, la expresión y abundancia de ELF3 fueron reprimidos por déficit hídrico (Figuras R14 y R25). Esto indica que ELF3 no media el efecto represivo del déficit hídrico sobre la expresión de *PIF4* (en tal caso debería haber aumentado, no disminuido su abundancia). La mutación *elf3* acentuó el impacto del déficit hídrico sobre la actividad del promotor *PIF4* (Figura R13 C), sugiriendo que los menores niveles de ELF3 en respuesta a la restricción hídrica potencian la respuesta del promotor del gen *PIF4* a la sequía.

La sequía reprime la acumulación de la proteína PIF4 en respuesta a sombra

Dado los efectos observados sobre la actividad del promotor de *PIF4*, se analizó si dichos cambios se manifestaban en respuestas a nivel de la proteína PIF4. La sequía reprimió la inducción por sombra de los niveles de PIF4 durante la primera mitad del fotoperíodo en cotiledones (Figura R13 B) e hipocotilo (Figura R21 y R28). La represión transcripcional de *PIF4* por sequía contribuiría a la menor acumulación de su proteína en ambos órganos. Además, en el hipocotilo, la abundancia de PIF4 también se encuentra bajo represión mediada por mecanismos postranscripcionales inducidos por la sequía (Figura R28). En

línea con este resultado, la sobre-expresión de *PIF4* y *PIF5* no eliminó la respuesta de inhibición del crecimiento por restricción hídrica en sombra (Figura R7).

Los resultado indicaron que la regulación de la dinámica molecular de PIF4 en el hipocotilo no sería causada por cambios en *phyB* (Figura R19), *HY5* (Figura R22), *ELF3* (Figura R25) o *RGA* (Figura R26), pues la acumulación de estos componentes no fue afectada por déficit hídrico o, en el caso de *RGA*, la respuesta de los mutantes pérdida de función *dellaQ* y ganancia de función *rga-Δ17* no indicó que tengan un rol en el control de la respuesta de elongación en sequía (Figuras R7 y R27). Por lo tanto, se indagaron otras vías que explicasen la regulación postranscripcional de PIF4 por déficit hídrico. Distintos antecedentes vinculan a las quinasas BIN2 y PPKs1-4 por un lado con la señalización en estrés osmótico (Jiang et al., 2019) y por otro con la regulación por fosforilación de la estabilidad de PIF3 y PIF4 (Bernardo-García et al., 2014; Ling et al., 2017) y de PIF3 (Ni et al., 2017a).

BIN2 interactúa directamente con PIF4, fosforilándolo y promoviendo su degradación, en una vía que sería importante en el establecimiento del patrón diario de crecimiento del hipocotilo (Bernardo-García et al., 2014). Asimismo, la actividad de BIN2 se estabiliza en tratamientos de estrés osmótico y por agregado de ABA exógeno (Jiang et al., 2019; Nolan et al., 2017). En estrés osmótico, BIN2 promueve la actividad de RD26, un represor del crecimiento, reforzando la señalización por déficit hídrico (Jiang et al., 2019; Ye et al., 2017). En las condiciones de este trabajo, el mutante ganancia de función *bin2-1* limitó fuertemente el impacto del déficit hídrico sobre la respuesta de crecimiento (Figura R29) y sobre la abundancia de PIF4, que de hecho subió en lugar de caer con la sequía (Figura R28). La represión en la respuesta de elongación a plantas vecinas se explicaría, al menos en parte, por una inhibición en la acumulación de PIF4 mediante la estabilización de la actividad de BIN2 por restricción hídrica. Hayes et al. 2019 propuso que la señalización por ABA promovería la actividad de BIN2 y otras GSK3 en salinidad, que actuarían directamente sobre BES1 e indirectamente sobre la actividad de PIF4 y PIF5, mediando la represión de la respuesta a bajo R:RL por estrés salino.

Además de la vía de BIN2 en la regulación postranscripcional de PIF4, los resultados indican que al menos una de las cuatro PPKs participarían en la represión de la acumulación nuclear de PIF4 en células del hipocotilo por déficit hídrico (Figura R28). Se ha reportado un rol de estas quinasas en el control de la estabilidad de PIF3 (Bernardo-García et al., 2014; Ni et al., 2017), pero su rol en la regulación de otros miembros de la familia PIF no había sido evaluado hasta el momento.

El tratamiento de restricción hídrica promovió la acumulación de PIF4 en los cotiledones durante la segunda mitad del fotoperíodo, y la mutación *elf3* suprimió este efecto (Figuras R13 B y D). Precisamente, en ese momento del fotoperíodo se acentuó el impacto del déficit hídrico sobre la abundancia de ELF3 (Figura R14 B). En ausencia de ELF3, los niveles de PIF4 siguieron un patrón diario mayormente paralelo a los niveles de actividad del promotor *PIF4* y sólo en la presencia de ELF3 los niveles de PIF4 cayeron sin que esto pueda correlacionarse con una menor actividad del promotor de *PIF4* (Figura R13) A partir de estos resultados se postuló que la sequía reprime la acumulación de ELF3, especialmente hacia el final del fotoperíodo, y esto permitiría el incremento observado en acumulación de PIF4 en los cotiledones por mecanismos postranscripcionales aún no bien establecidos.

La sequía reprime la expresión de genes de respuesta a sombra regulados por PIF3, PIF4 y PIF5

Dado que la sequía redujo la abundancia de PIF4 durante las primeras horas de exposición a la sombra, se analizaron los patrones de actividad de promotores que son blancos directos de PIF4 (y también afectados por PIF3 y PIF5) como *PIL1*, *HFR1* e *IAA19* (Hornitschek et al., 2012, 2009; Leivar et al., 2020; Li et al., 2014; Soy et al., 2012). La restricción hídrica reprimió el efecto de la sombra sobre *PIL1* e *IAA19* pero no afectó significativamente la actividad de *HFR1* (Figura R11). La expresión de *PAR1*, otro marcador de respuesta a sombreado, seguiría un patrón de respuesta similar (Tabla S1). El perfil de abundancia de PIF4 (Figura R13 B) explica parcialmente el impacto del déficit hídrico sobre la respuesta de los promotores *PIL1* e *IAA19*, pues PIF4 revierte su caída luego de las primeras horas sugiriendo una posible participación de otros factores de transcripción, incluyendo PIF3 y PIF5 entre otras posibilidades.

La sequía reprime la señalización por auxina en el hipocotilo

Los cotiledones son el principal órgano de percepción de señales lumínicas y síntesis de auxinas (Procko et al., 2014). Las señales de plantas vecinas promueven la actividad de los PIFs, que regulan la expresión de genes relacionados a la síntesis y transporte de auxinas. En cotiledones, la expresión de genes relacionados a la síntesis, transporte y señalización de auxinas aumenta desde los 15 minutos de tratamiento de sombreado y alcanza su máximo de expresión dentro de los 90 min de tratamiento (Kohnen et al., 2016). Esto correlaciona con un rápido aumento (1-2 h) en el contenido de auxinas en los cotiledones (Procko et al., 2014; Tao et al., 2008). Las auxinas son transportadas hacia el hipocotilo

donde se distribuyen radialmente, desde la vasculatura del hipocotilo hacia la epidermis. Este tejido coordina respuestas de producción y señalización de auxinas que promueven la elongación celular (Procko et al., 2016). En el contexto de esta dinámica, la menor abundancia de PIF4 en restricción hídrica durante la primer mitad del fotoperíodo (Figura R13 B) limitaría la respuesta de síntesis de auxinas, a la vez que la menor expresión de *PIN3* en pecíolos (Figura R8) restringiría su transporte hacia el hipocotilo. De acuerdo con estas interpretaciones, se observó que la sequía reduce los niveles de señalización de auxina en la epidermis del hipocotilo (Figura R18). La menor expresión de *PIF3*, *PIF4* y *PIF5* (Figura R20) y la menor abundancia de PIF4 (Figuras R21 y R28) en este órgano conducirían a una respuesta al sombreado de menor intensidad en condiciones de déficit hídrico, ya que los cambios locales en el hipocotilo contribuyen a reforzar la respuesta a auxina (Procko 2016, Pucciariello, 2018).

La sequía reduce el impacto de PIF4 en la respuesta de elongación a sombra

La sequía produjo una caída de los niveles de la proteína PIF4 durante las primeras horas de sombreado (Figuras R13 y R28) y afectó seriamente la actividad de algunos de sus promotores blanco (Figura R11). Dado que la respuesta de las plantas al sombreado requiere PIF4 (Leivar et al., 2012; Lorrain et al., 2008; Pacín et al., 2016) esta podría ser una de las causas por las que la sequía reprime la respuesta de crecimiento del tallo a la sombra. De acuerdo con esta interpretación, el impacto del déficit hídrico sobre la respuesta de elongación dependió de *PIF3*, *PIF4* y *PIF5* (Figuras R6 y R7). De hecho, la mayoría de los mutantes de genes importantes en la respuesta de elongación a las señales de plantas vecinas analizados aquí disminuyó el impacto de la sequía sobre el crecimiento del hipocotilo.

Es interesante notar que si bien la sequía redujo el tamaño final de los cotiledones (Figura R15 B), en la ventana temporal en que se analizó el crecimiento del hipocotilo no fue efectiva en reducir la expansión de los cotiledones (Figura R15 A). Esto demuestra una sorprendente diferencia en la sensibilidad de ambos órganos. Además, a diferencia de lo observado en el hipocotilo, la mutación *pif4* no afectó el impacto del déficit hídrico sobre la respuesta de expansión de los cotiledones a largo plazo (Figura R15 B). En cambio, la mutación *pif4* eliminó completamente la respuesta de los cotiledones al sombreado en el corto como en el largo plazo (Figura R15). Estos resultados señalan que la disponibilidad

hídrica modula el crecimiento del hipocotilo y de los cotiledones mediante mecanismos independientes, que involucran a PIF4 en el primer caso, pero no en el segundo.

Rol dual del ABA en el crecimiento del hipocotilo

Dado que el ABA tiene un rol central en la regulación de respuestas a estrés osmótico por sequía y salinidad, y media el efecto del estrés salino en la respuesta de elongación por plantas vecinas (Hayes et al., 2019), se evaluó su participación en la represión de la respuesta de elongación por déficit hídrico. Los resultados sugieren la participación del ABA en el control de la respuesta de elongación al menos mediante dos vías de efectos opuestos. Por un lado, en experimentos farmacológicos el agregado exógeno de esta hormona reprimió la respuesta de elongación en sombra, pues redujo el crecimiento en dicha condición sin afectar mayormente el crecimiento en luz blanca (Figura R4). Por otro lado, los análisis genéticos con mutantes en genes de síntesis y señalización de ABA indican que la vía del ABA tendría un rol positivo en la respuesta de promoción del crecimiento en sombra, pues los mutantes respondieron menos, no más, que el genotipo salvaje a la sombra (Figuras R4 y R5).

La literatura presenta antecedentes a favor de una y otra vía. El agregado de ABA en concentraciones altas reprime la elongación del hipocotilo (Hayashi et al., 2014; Lorrai et al., 2018; Ortiz-Alcaide et al., 2019). Además, la promoción del crecimiento del hipocotilo por señales de bajo R:RL es inhibida por estrés salino, que reprime la actividad de PIF4 y PIF5 mediante la señalización de ABA (Hayes et al., 2019) y por señales del cloroplasto vinculadas a la señalización por ABA (Ortiz-Alcaide et al., 2019).

Tal vez más sorprendente sea la vía positiva de ABA. Sin embargo, hay antecedentes que indican un rol del ABA como promotor del crecimiento (Barrero et al., 2005; Humplík et al., 2015, 2017; Sharp et al., 2000; Yoshida et al., 2019), aunque este efecto no había sido reportado en el contexto de la señalización por plantas vecinas. Además, en condiciones óptimas de disponibilidad hídrica, las señales de plantas vecinas promueven la expresión de genes de síntesis de ABA e inducen un incremento en el contenido de esta hormona en ciertos órganos (Asghar et al., 2019; Cagnola et al., 2012; Kurepin et al., 2007; Ortiz-alcaide et al., 2019). En experimentos no publicados aún, el laboratorio de Giltso Choi ha observado que algunos factores de transcripción activados por la vía de señalización de ABA guían a los PIFs a sus genes blanco (exposición oral de Giltso Choi, referida por Jorge Casal). Esto último podría explicar el efecto positivo de ABA. Es lícito preguntarse por qué otros trabajos que analizaron mutantes de síntesis, percepción o señalización de

ABA no encontraron evidencias sobre el efecto positivo de ABA sobre las respuestas a señales de vecinas (Hayes et al., 2019; Ortiz-Alcaide et al., 2019), pero hay que notar la existencia de diferencias importantes en las ventanas temporales de análisis y las condiciones de luz y simulación de sombra entre aquellos trabajos y esta tesis.

Las aproximaciones genéticas y farmacológicas tienen cinéticas muy diferentes, ya que en la primera faltan componentes durante toda la vida de la plántula mientras que en la segunda se activan componentes con una cinética muy similar a la de los tratamientos de sequía. Una interpretación compatible con las observaciones presentadas aquí es que el aumento de ABA con sequía (Dilukshi Fernando & Schroeder, 2016; Kalladan et al., 2017; Kumar et al., 2019; Zhu, 2002, 2016) efectivamente dispara la caída de la respuesta al sombreado, pero niveles basales de los componentes de señalización por ABA son requeridos para las respuestas al sombreado. La aproximación farmacológica reproduciría la primera componente, y la aproximación genética evidenciaría la segunda.

Modelo de condicionamiento de la respuesta de elongación por sequía

Recapitulando lo discutido en párrafos anteriores, es posible plantear un modelo que explica al menos parcialmente cómo el déficit hídrico condiciona las respuestas rápidas al sombreado. En plantas expuestas a déficit hídrico, la sombra tiene un efecto inferior al normal sobre la acumulación de PIF4 en los cotiledones (Figura R13). Esto se debería en buena medida a la menor expresión del gen PIF4 (Figuras R12 B y R20 B), que a su vez correlaciona con una menor expresión de *CAA1/LHY* (Figura R16) cuyos productos regulan positivamente la expresión de *PIF4* (Sun et al., 2019). Una hipótesis a probar en futuros experimentos es que la menor expresión de *CAA1/LHY* se deba a *TOC1* (Gendron et al., 2012), que responde positivamente al ABA (Legnaioli et al., 2009), que aumenta con la sequía. La mayor actividad de PIF4 en respuesta a las señales de plantas vecinas promueve la síntesis de auxina en los cotiledones. La auxina es transportada al hipocotilo, donde promueve su crecimiento (Procko et al., 2014; Procko et al., 2016). La sequía redujo la señalización de auxina en el hipocotilo (Figura R18), consistentemente con la menor abundancia de PIF4 en los cotiledones y la menor expresión del transportador PIN3 (Figura R8). Por otro lado, directamente en el hipocotilo la sequía reprime la actividad de los promotores de *PIF3*, *PIF4* y *PIF5* y tiene efectos postranscripcionales negativos al menos sobre PIF4 (Figuras R20, R21 y R28). Las quinasas BIN2 y PPK1-4 podrían mediar esa represión postranscripcional (Figuras R28 y R29).

Es interesante notar que la disponibilidad hídrica y las señales de plantas vecinas convergen sobre PIF4 en el control del crecimiento del hipocotilo (Figuras R6 y R7), pero no lo hacen para el control del crecimiento de los cotiledones (Figura R15). La sequía tiene efectos tempranos sobre el crecimiento del hipocotilo (Figura R3), cuando todavía no se observan efectos sobre la expansión de los cotiledones, mientras que las sombra tiene efectos muy rápidos sobre la expansión de los cotiledones (Figura R15 A) y el crecimiento del hipocotilo. Esto demuestra que la integración de señales de sombra y sequía es altamente sofisticada.

La regulación de PIF4 por disponibilidad hídrica deriva en un ajuste aparentemente adecuado de la respuesta de elongación al ambiente en toda su complejidad, y no únicamente a las señales lumínicas. La menor respuesta de elongación en condiciones de déficit hídrico mantendría el cuerpo de las plantas dentro del micro-clima del canopeo, donde la demanda atmosférica suele ser menor y, por lo tanto, es favorable al desarrollo en términos de balance hídrico. Todaka et al., 2012 propuso una interpretación similar de la regulación de *OsPIL1* por sequía. La integración de señales lumínicas e hídricas a nivel de PIF4 tendría un valor adaptativo positivo en tanto permite el ajuste plástico de la morfología vegetal en la respuesta a plantas vecinas según la disponibilidad del recurso hídrico.

Bibliografía

Bibliografía

- Abbas, A. M., Rubio-casal, A. E., Cires, A. De, Grewell, B. J., & Castillo, J. M. (2019). Differential tolerance of native and invasive tree seedlings from arid African deserts to drought and shade. *South African Journal of Botany*, 123, 228–240. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.03.018>
- Abràmoff, M. (2004). Image processing with ImageJ. *Biophotonics International* ©. Retrieved from <http://webeye.ophth.uiowa.edu/dept/biograph/abramoff/imagej.pdf>
- Achard, P., Cheng, H., Grauwe, L. De, Decat, J., Schoutteten, H., Moritz, T., ... Harberd, N. P. (2006). Integration of Plant Responses to Environmentally Activated Phytohormonal Signals. *Science*, 311(5757), 91–94.
- Al-Sady, B., Ni, W., Kircher, S., Schäfer, E., & Quail, P. H. (2006). Photoactivated Phytochrome Induces Rapid PIF3 Phosphorylation Prior to Proteasome-Mediated Degradation. *Molecular Cell*, 23(2004), 439–446. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2006.06.011>
- Ang, L., Chattopadhyay, S., Wei, N., Oyama, T., Okada, K., Batschauer, A., & Deng, X. (1998). Molecular Interaction between COP1 and HY5 Defines a Regulatory Switch for Light Control of Arabidopsis Development. *Molecular Cell*, 1, 213–222.
- Asghar, M. A., Du, J., Jiang, H., Li, Y., Sun, X., Shang, J., ... Yang, W. (2019). Shade pretreatment enhanced drought resistance of soybean. *Environmental and Experimental Botany*, 171, 103952. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.103952>
- Barrero, J. M., Piqueras, P., González-Guzmán, M., Serrano, R., Rodríguez, P. L., Ponce, M. R., & Micol, J. L. (2005). A mutational analysis of the ABA1 gene of Arabidopsis thaliana highlights the involvement of ABA in vegetative development. *Journal of Experimental Botany*, 56(418), 2071–2083. <https://doi.org/10.1093/jxb/eriz06>
- Baudry, A., Ito, S., Song, Y. H., Strait, A. A., Kiba, T., Lu, S., ... Imaizumi, T. (2010). F-Box Proteins FKF1 and LKP2 Act in Concert with ZEITLUPE to Control Arabidopsis Clock Progression. *The Plant*, 22(March), 606–622. <https://doi.org/10.1105/tpc.109.072843>
- Bauer, H., Ache, P., Lautner, S., Fromm, J., Hartung, W., Al-rasheid, K. A. S., ... Hedrich, R. (2013). The Stomatal Response to Reduced Relative Humidity Requires Guard Cell-Autonomous ABA Synthesis. *Current Biology*, 23(1), 53–57. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.11.022>
- Behnam, B. A., Iuchi, S. A., Fujita, M. I. K. I., Fujita, Y. A., Takasaki, H. I., Osakabe, Y. U., ... Shinozaki, K. A. (2013). Characterization of the Promoter Region of an Arabidopsis Gene for g- cis -Epoxy-carotenoid Dioxygenase Involved in Dehydration-Inducible Transcription, (April), 315–324.
- Bennett, M. J., Marchant, A., Green, H. G., May, S. T., Ward, S. P., Millner, P. A., ... Feldmann, W. A. (1996). Arabidopsis AUX1 Gene: A Permease-Like Regulator of Root Gravitropism. *Science*, 273(August), 948–950.
- Bensmihen, S., Rippa, S., Lambert, G., Jublot, D., Pautot, V., Granier, F., ... Parcy, F. (2002). The Homologous ABI5 and EEL Transcription Factors Function Antagonistically to Fine-Tune Gene Expression during Late Embryogenesis. *The Plant Cell*, 14(June), 1391–1403. <https://doi.org/10.1105/tpc.000869.ulins>
- Bernardo-garc, S., Lucas, M. De, Mart, C., & Espinosa-ruiz, A. (2014). BR-dependent phosphorylation modulates PIF4 transcriptional activity and shapes diurnal hypocotyl growth, 1681–1694. [https://doi.org/10.1101/gad.243675.114.\(bHLH\)](https://doi.org/10.1101/gad.243675.114.(bHLH))
- Bernardo-García, S., de Lucas, M., Martínez, C., Espinosa-Ruiz, A., Davière, J.-M., & Prat, S. (2014). BR-dependent phosphorylation modulates PIF4 transcriptional activity and shapes diurnal hypocotyl growth. *Genes & Development*, 28(15), 1681–1694. <https://doi.org/10.1101/gad.243675.114>
- Béziat, C., Kleine-vehn, J., & Feraru, E. (2017). Histochemical Staining of B -Glucuronidase and Its Spatial Quantification. In *Plant Hormones: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology* (Vol. 1497, pp. 73–80). <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6469-7>
- Blanco-touriñán, N., Legris, M., Mingue, E. G., Costigliolo-Rojas, C., Nohales, M. A., Iniesto, E., ... Alabadía, D. (2020). COP1 destabilizes DELLA proteins in Arabidopsis.
- Boccaccini, A., Legris, M., Krahmer, J., Allenbach-Petrolati, L., Anupama, G., Galvan-Ampudia, C., ... Fankhauser, C. (2020). In Arabidopsis, low blue light enhances phototropism by releasing cryptochrome 1 mediated inhibition of PIF4 expression. *BioRxiv Preprint Doi:*
- Boudsocq, M., Barbier-Brygoo, H., & Laurie, C. (2004). Identification of Nine Sucrose Nonfermenting 1-related Protein Kinases 2 Activated by Hyperosmotic and Saline Stresses in Arabidopsis thaliana. *The Journal of Biological Chemistry*, 279(40), 41758–41766. <https://doi.org/10.1074/jbc.M405259200>
- Box, M. S., Huang, B. E., Domijan, M., Jaeger, K. E., Khattak, A. K., Yoo, S. J., ... Wigge, P. A. (2015). ELF3 Controls Thermoresponsive Growth in Arabidopsis. *Current Biology*, 25(2), 194–199. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.10.076>
- Brodribb, T. J., Powers, J., & Choat, B. (2020). Hanging by a thread? Forests and drought, 266(November 2019), 261–266.
- Brunoud, G., Wells, D. M., Oliva, M., Larrieu, A., Mirabet, V., Burrow, A. H., ... Vernoux, T. (2012). A novel sensor to map auxin response and distribution at high spatio-temporal resolution. *Nature*, 000(1), 103–106. <https://doi.org/10.1038/nature10791>
- Bu, Q., Zhu, L., & Huq, E. (2011). Multiple kinases promote light-induced degradation of PIF1. *Plant Signaling & Behavior*, (August), 1119–1121. <https://doi.org/10.4161/psb.6.8.16049>
- Cagnola, J. I., Dumont De Chassart, J. G., Ibarra, S. E., Chimenti, C., Ricardi, M. M., Delzer, B., ... Casal, J. J. (2018).

- Reduced expression of selected ARABINOGALACTAN PROTEIN genes associates with the abortion of kernels in field crops of *Zea mays* (maize) and of *Arabidopsis* seeds. *Plant Cell*, *41*, 661–674. <https://doi.org/10.1111/pce.13136>
- Cagnola, J. I., Ploschuk, E., Benech-arnold, T., Finlayson, S. A., & Casal, J. J. (2012). Stem Transcriptome Reveals Mechanisms to Reduce the Energetic Cost of Shade-Avoidance Responses. *Plant Physiology*, *160*(October), 1110–1119. <https://doi.org/10.1104/pp.112.201921>
- Casal, J. J. (2012). Shade avoidance. *The Arabidopsis Book / American Society of Plant Biologists*, *10*. <https://doi.org/10.1199/tab.0157>
- Casal, J. J. (2013). Photoreceptor signaling networks in plant responses to shade. *Annual Review of Plant Biology*, *64*(January), 403–427. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120221>
- Casal, J. J., Luccioni, L. G., Oliverio, K. A., & Boccacandro, H. E. (2003). Light, phytochrome signalling and photomorphogenesis in *Arabidopsis*. *Photochemical & Photobiological Sciences*, *2*(6), 625. <https://doi.org/10.1039/b300094j>
- Casson, S. A., Franklin, K. A., Gray, J. E., Grierson, C. S., Whitlam, G. C., & Hetherington, A. M. (2009). phytochrome B and PIF4 regulate stomatal development in response to light quantity. *Current Biology: CB*, *19*(3), 229–234. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.12.046>
- Chen, Hong-ie, Li, P., & Yang, C. (2019). NAC-Like Gene GIBBERELLIN the Gibberellin Metabolic Pathway in Response to Cold and Drought Stresses in *Arabidopsis*. *Scientific Reports-Nature Research*, *9*, 1–17. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55429-8>
- Chen, Hu-hui, Qu, L., Xu, Z., Zhu, J., & Xue, H. (2018). EL1-like Casein Kinases Suppress ABA Signaling and Responses by Phosphorylating and Destabilizing the ABA Receptors PYR / PYLs in *Arabidopsis*. *Molecular Plant*, *11*, 706–719. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2018.02.012>
- Choi, H., Hong, J., Ha, J., Kang, J., & Kim, S. Y. (2000). ABFs, a Family of ABA-responsive Element Binding Factors. *The Journal of Biological Chemistry*, *275*(3), 1723–1730.
- Ciolfi, A., Sessa, G., Sassi, M., Possenti, M., Salvucci, S., Carabelli, M., ... Ruberti, I. (2013). Dynamics of the Shade-Avoidance Response. *Plant Physiology*, *163*(September), 331–353. <https://doi.org/10.1104/pp.113.221549>
- Cluis, C. P., Mouchel, C. F., & Hardtke, C. S. (2004). The *Arabidopsis* transcription factor HY5 integrates light and hormone signaling pathways. *The Plant Journal*, *332*–347. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2004.02052.x>
- Colebrook, E. H., Thomas, S. G., Phillips, A. L., & Hedden, P. (2014). The role of gibberellin signalling in plant responses to abiotic stress, 67–75. <https://doi.org/10.1242/jeb.089938>
- Cutler, S. R., Rodriguez, P. L., Finkelstein, R. R., & Abrams, S. R. (2010). Abscisic Acid: Emergence of a Core Signaling Network. *Annual Review of Plant Biology*, *61*, 651–679. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112122>
- de Lucas, M., Davière, J.-M., Rodríguez-Falcón, M., Pontin, M., Iglesias-Pedraz, J. M., Lorrain, S., ... Prat, S. (2008). A molecular framework for light and gibberellin control of cell elongation. *Nature*, *451*(January), 480–484. <https://doi.org/10.1038/nature06520>
- de Wit, M., Costa Galvao, V., & Fankhauser, C. (2016). Light-Mediated Hormonal Regulation of Plant Growth and Development. *Annual Review of Plant Biology*, *67*, 513–537. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-043015-112252>
- Dejonghe, W., & Cutler, S. R. (2019). *Abscisic acid as a gateway for the crops of tomorrow*. *Advances in Botanical Research* (Vol. 92). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2019.09.015>
- Delker, C., Sonntag, L., Schneeberger, K., Quint, M., Ziermann, H., Davis, S. J., ... Quint, M. (2014). The DET1-COP1-HY5 Pathway Constitutes a Multipurpose Signaling Module Regulating Plant Report The DET1-COP1-HY5 Pathway Constitutes a Multipurpose Signaling Module Regulating Plant Photomorphogenesis and Thermomorphogenesis. *Cell Reports*, *1983*–1989. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.11.043>
- Devlin, P. F., Marti, J. F., Roig-Villanova, I., Bou, J., Sorin, C., Martínez-García, J. F., ... Martínez-García, J. F. (2006). Identification of primary target genes of phytochrome signaling. Early transcriptional control during shade avoidance responses in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, *141*(May), 85–96. <https://doi.org/10.1104/pp.105.076331>
- Dill, A., Jung, H., & Sun, T. (2001). The DELLA motif is essential for gibberellin-induced degradation of RGA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *98*(24), 14162–14167.
- Dilukshi Fernando, V. C., & Schroeder, D. F. (2016). Role of ABA in *Arabidopsis* Salt, Drought, and Desiccation Tolerance. In A. Shanker & C. Shanker (Eds.), *Abiotic and Biotic Stress in Plants - Recent Advances and Future Perspectives* (2016th ed., pp. 507–524). BoD-Books on Demand. <https://doi.org/10.5772/60477>
- Dong, H., Liu, J., He, G., Liu, P., & Sun, J. (2019). Photoexcited phytochrome B interacts with brassinazole resistant 1 to repress brassinosteroid signaling in *Arabidopsis*. *Journal of Integrative Plant Biology*, *62*(5), 652–667. <https://doi.org/10.1111/jipb.12822>
- Dong, J., Ni, W., Yu, R., Deng, X. W., Chen, H., & Wei, N. (2017). Light-Dependent Degradation of PIF3 by SCFEF1/2 Promotes a Photomorphogenic Response in *Arabidopsis*. *Current Biology*, *27*(16), 2420–2430.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.06.062>
- Dubois, M., Claeys, H., Broeck, L. Van Den, & Inzé, D. (2017). Time of day determines *Arabidopsis* transcriptome and growth dynamics under mild drought. *Plant, Cell & Environment*, *40*, 180–189. <https://doi.org/10.1111/pce.12809>

- Dubois, M., Claeys, H., Van den Broeck, L., & Inzé, D. (2017). Time of day determines Arabidopsis transcriptome and growth dynamics under mild drought. *Plant Cell and Environment*, 40(2), 180–189. <https://doi.org/10.1111/pce.12809>
- Endo, A., Sawada, Y., Takahashi, H., Okamoto, M., Ikegami, K., Koiwai, H., ... Nambara, E. (2008). Drought Induction of Arabidopsis 9-cis-Epoxycarotenoid Dioxygenase Occurs in Vascular Parenchyma Cells 1 [W] [OA]. *Plant Physiology*, 147(August), 1984–1993. <https://doi.org/10.1104/pp.108.116632>
- Ezer, D., Jung, J., Lan, H., Biswas, S., Gregoire, L., Mathew, S., ... Wigge, P. A. (2017). The evening complex coordinates environmental and endogenous signals in Arabidopsis. *Nature Plants*, (June). <https://doi.org/10.1038/nplants.2017.87>
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. M. A. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*, 29, 185–212.
- Feng, S., Martinez, C., Gusmaroli, G., Wang, Y., Zhou, J., Wang, F., ... Deng, X. W. (2008). Coordinated regulation of Arabidopsis thaliana development by light and gibberellins. *Nature*, 451(7177), 475–479. <https://doi.org/10.1038/nature06448>
- Feng, W., Lindner, H., Robbins, N. E., & Dinneny, J. R. (2016). Growing Out of Stress: The Role of Cell- and Organ-Scale Growth Control in Plant Water-Stress Responses. *The Plant Cell*, 28(August), 1769–1782. <https://doi.org/10.1105/tpc.16.00182>
- 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(April), 599–609.
- Finkelstein, R. R., & Rock, C. D. (2002). Abscisic Acid Biosynthesis and Response. *The Arabidopsis Book*, 2002(1), 1–48.
- Fiorucci, A., & Fankhauser, C. (2017). Plant Strategies for Enhancing Access to Sunlight. *Current Biology*, 27(17), R931–R940. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.05.085>
- Fiorucci, A. S., & Fankhauser, C. (2017). Plant Strategies for Enhancing Access to Sunlight. *Current Biology*, 27(17), R931–R940. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.05.085>
- Franciosini, A., Rymen, B., Shibata, M., Favero, D. S., & Sugimoto, K. (2017). Molecular networks orchestrating plant cell growth. *Current Opinion in Plant Biology*, 35, 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2016.11.010>
- Franklin, K. a. (2008). Shade avoidance. *The New Phytologist*, 179(4), 930–944. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02507.x>
- Friml, J., Wiśniewska, J., Benková, E., Mendgen, K., & Palme, K. (2002). Lateral relocation of auxin efflux regulator PIN3 mediates tropism in Arabidopsis. *Nature*, 415(6873), 806–809. <https://doi.org/10.1038/415806a>
- Fujimori, T., Yamashino, T., Kato, T., & Mizuno, T. (2004). Circadian-Controlled Basic / Helix-Loop-Helix Factor , PIL6 , Implicated in Light-Signal Transduction in Arabidopsis thaliana. *Plant Cell Physiology*, 45(8), 1078–1086.
- Gangappa, S. N., & Kumar, S. V. (2017). DET1 and HY5 Control PIF4-Mediated Thermosensory Elongation Growth through Distinct Mechanisms. *Cell Reports*, 18(2), 344–351. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.12.046>
- Gao, Y., Wu, M., Zhang, M., Jiang, W., Liang, E., Zhang, D., ... Chen, J. (2018). Roles of a maize phytochrome-interacting factors protein ZmPIF3 in regulation of drought stress responses by controlling stomatal closure in transgenic rice without yield penalty. *Plant Molecular Biology*, 97(4–5), 311–323. <https://doi.org/10.1007/s11103-018-0739-4>
- Gao, Y., Wu, M., Zhang, M., Jiang, W., Ren, X., Liang, E., ... Chen, J. (2018). A maize phytochrome-interacting factors protein ZmPIF1 enhances drought tolerance by inducing stomatal closure and improves grain yield in *Oryza sativa*. *Plant Biotechnology Journal*, 16(7), 1375–1387. <https://doi.org/10.1111/pbi.12878>
- Garcarrubio, A., Legaria, J. P., & Covarrubias, A. A. (1997). Abscisic acid inhibits germination of mature Arabidopsis seeds by limiting the availability of energy and nutrients. *Planta*, 203, 182–187.
- Gendron, J. M., Pruneda-paz, J. L., Doherty, C. J., Gross, A. M., Kang, S. E., & Kay, S. A. (2012). Arabidopsis circadian clock protein , TOC1 , is a DNA-binding transcription factor, 109(8), 3167–3172. <https://doi.org/10.1073/pnas.1200355109>
- Geng, Y., Wu, R., Wee, C. W., Xie, F., Wei, X., Chan Yeen, P. M., ... Dinneny, J. R. (2013). A Spatio-Temporal Understanding of Growth Regulation during the Salt Stress Response in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 25(June), 2132–2154. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.112896>
- González-guzmán, M., Apostolova, N., Bellés, J. M., Barrero, J. M., Piqueras, P., Ponce, M. R., ... Rodríguez, P. L. (2002). The Short-Chain Alcohol Dehydrogenase ABA2 Catalyzes the Conversion of Xanthoxin to Abscisic Aldehyde. *The Plant Cell*, 14(August), 1833–1846. <https://doi.org/10.1105/tpc.002477>
- Gronidin, A., Rodrigues, O., Verdoucq, L., Merlot, S., Leonhardt, N., & Maurel, C. (2015). Aquaporins Contribute to ABA-Triggered Stomatal Closure through OST1-Mediated Phosphorylation. *The Plant Cell*, 27(July), 1945–1954. <https://doi.org/10.1105/tpc.15.00421>
- Grossiord, C., Buckley, T. N., Cernusak, L. A., Novick, K. A., Poulter, B., Siegwolf, R. T. W., ... McDowell, N. G. (2020). Plant responses to rising vapor pressure deficit. *New Phytologist*, 226(6), 1550–1566. <https://doi.org/10.1111/nph.16485>
- Gupta, A. (2020). The physiology of plant responses to drought, 269(April), 266–269.
- Hagiwara, Y., Kachi, N., & Suzuki, J. (2010). Effects of temporal heterogeneity of water supply on the growth of *Perilla frutescens* depend on plant density, 173–181. <https://doi.org/10.1093/aob/mcq096>

- Hayashi, Y., Takahashi, K., Inoue, S., & Kinoshita, T. (2014). Abscisic Acid Suppresses Hypocotyl Elongation by Dephosphorylating Plasma Membrane H⁺-ATPase in *Arabidopsis thaliana*. *Plant & Cell Physiology*, *55*(4), 845–853. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcu028>
- Hayes, S., Pantazopoulou, C. K., Van Gelderen, K., Reinen, E., Tween, A. L., Sharma, A., ... Pierik, R. (2019). Soil Salinity Limits Plant Shade Avoidance. *Current Biology*, *29*, 1–8. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.03.042>
- Hayes, S., Tween, A. L., Gelderen, K. van, Vries, M. de, Prat, S., Schuurink, R., ... Pierik, R. (2018). Soil salinity inhibits plant shade avoidance. *BioRxiv*, *5*, 289124. <https://doi.org/10.1101/289124>
- Herrero, E., Kolmos, E., Bujdoso, N., Yuan, Y., Wang, M., Berns, M. C., ... Davis, S. J. (2012). EARLY FLOWERING₄ Recruitment of EARLY FLOWERING₃ in the Nucleus Sustains the *Arabidopsis* Circadian Clock. *The Plant Cell*, *24*(February), 428–443. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.093807>
- Hilhorst, H. M. (1995). A critical update on seed dormancy. *Sea Science Research*, *5*, 61–73. <https://doi.org/10.1017/S0960258500002634>
- Hohl, M., & Schopfer, P. (1991). Water Relations of Growing Maize Coleoptiles. Comparison between Mannitol and Polyethylene Glycol 6000 as External Osmotica for Adjusting Turgor Pressure. *Plant Physiology*, *95*, 716–722.
- Holmgren, M., Gómez-Aparicio, L., Quero, J. L., & Valladares, F. (2012). Non-linear effects of drought under shade: Reconciling physiological and ecological models in plant communities. *Oecologia*, *169*(2), 293–305. <https://doi.org/10.1007/s00442-011-2196-5>
- Hornitschek, P., Kohnen, M. V., Lorrain, S., Rougemont, J., Ljung, K., López-Vidriero, I., ... Fankhauser, C. (2012). Phytochrome interacting factors 4 and 5 control seedling growth in changing light conditions by directly controlling auxin signaling. *Plant Journal*, *71*(5), 699–711. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3113X.2012.05033.x>
- Hornitschek, P., Lorrain, S., Zoete, V., Michielin, O., & Fankhauser, C. (2009). Inhibition of the shade avoidance response by formation of non-DNA binding bHLH heterodimers. *The EMBO Journal*, *28*(24), 3893–3902. <https://doi.org/10.1038/emboj.2009.306>
- Huang, D., Wu, W., Abrams, S. R., & Cutler, A. J. (2008). The relationship of drought-related gene expression in *Arabidopsis thaliana* to hormonal and environmental factors. *Journal of Ex*, *59*(11), 2991–3007. <https://doi.org/10.1093/jxb/ern155>
- Huang, H., Alvarez, S., Bindbeutel, R., Shen, Z., Naldrett, M. J., Evans, B. S., ... Nusinow, D. A. (2016). Identification of Evening Complex Associated Proteins in *Arabidopsis* by Affinity Purification and Mass Spectrometry. *Molecular and Cellular Proteomics*, *(3)*, 201–217. <https://doi.org/10.6019/PXD002606>.Each
- Huang, X., Zhang, Q., Jiang, Y., Yang, C., Wang, Q., & Li, L. (2018). Shade-induced nuclear localization of PIF7 is regulated by phosphorylation and 14-3-3 proteins in *Arabidopsis*. *ELife*, *7*, 470–476. <https://doi.org/10.7554/eLife.31636>
- Huber, A. E., & Bauerle, T. L. (2016). Long-distance plant signaling pathways in response to multiple stressors : the gap in knowledge. *Journal of Ex*, *67*(7), 2063–2079. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw099>
- Humplík, J. F., Bergougnoux, V., Jandová, M., & Jan, Š. (2015). Endogenous Abscisic Acid Promotes Hypocotyl Growth and Affects Endoreduplication during Dark-Induced Growth in Tomato (*Solanum lycopersicum* L.), 1–23. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117793>
- Humplík, J. F., Bergougnoux, V., & Volkenburgh, E. Van. (2017). To Stimulate or Inhibit ? That Is the Question for the Function of Abscisic Acid. *Trends in Plant Science*, *22*(10), 830–841. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.07.009>
- Huq, E., & Quail, P. H. (2002). PIF₄, a phytochrome-interacting bHLH factor, functions as a negative regulator of phytochrome B signaling in *Arabidopsis* Enamul. *The EMBO Journal*, *21*(10), 2441–2450.
- Iglesias, M. J., Sellaro, R., Zurbriggen, M. D., & Casal, J. J. (2018a). Multiple links between shade avoidance and auxin networks, *69*(2), 213–228. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx295>
- Iglesias, M. J., Sellaro, R., Zurbriggen, M. D., & Casal, J. J. (2018b). Multiple links between shade avoidance and auxin networks. *Journal of Experimental Botany*, *69*(2), 213–228. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx295>
- Iuchi, S., Kobayashi, M., Taji, T., Naramoto, M., Seki, M., Kato, T., ... Shinozaki, K. (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*(4), 325–333.
- Jiang, H., Tang, B., Xie, Z., Nolan, T., Ye, H., Song, G., ... Yin, Y. (2019). GSK3-like kinase BIN2 phosphorylates RD26 to potentiate drought signaling in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, *100*, 923–937. <https://doi.org/10.1111/tpj.14484>
- Jiang, Y., Yang, C., Huang, S., Xie, F., Xu, Y., Liu, C., & Li, L. (2019). The ELF₃-PIF₇ Interaction Mediates the Circadian Gating of the Shade Response in *Arabidopsis* The ELF₃-PIF₇ Interaction Mediates the Circadian Gating of the Shade Response in *Arabidopsis*. *ISCIENCE*, *22*, 288–298. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2019.11.029>
- Jiménez-Gómez, J. M., Wallace, A. D., & Maloof, J. N. (2010). Network Analysis Identifies ELF₃ as a QTL for the Shade Avoidance Response in *Arabidopsis*. *PLoS Genetics*, *6*(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1001100>
- Jung, J. H., Domijan, M., Klose, C., Biswas, S., Ezer, D., Gao, M., ... Wigge, P. A. (2016). Phytochromes function as thermosensors in *Arabidopsis*. *Science*, *354*(6314). <https://doi.org/10.1126/science.aaf6005>
- Kalladan, R., Lasky, J. R., Chang, T. Z., Sharma, S., Juenger, T. E., & Verslues, P. E. (2017). Natural variation

- identifies genes affecting drought- induced abscisic acid accumulation in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(43), 11536–11541. <https://doi.org/10.1073/pnas.1705884114>
- Kant, P., Gordon, M., Kant, S., Zolla, G., Davydov, O., Heimer, Y. M., ... Barak, S. (2008). Functional-genomics-based identification of genes that regulate *Arabidopsis* responses to multiple abiotic stresses. *Plant, Cell & Environment*, 31, 697–714. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2008.01779.x>
- Karayekov, E., Sellaro, R., Legris, M., Yanovsky, M. J., & Casal, J. J. (2013). Heat Shock – Induced Fluctuations in Clock and Light Signaling Enhance Phytochrome B – Mediated *Arabidopsis* Deetiolation. *The Plant Cell*, 25(August), 2892–2906. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.114306>
- Katari, M. S., Nowicki, S. D., Aceituno, F. F., Nero, D., Kelfer, J., Thompson, L. P., ... Gutiérrez, R. A. (2010). VirtualPlant: A Software Platform to Support Systems. *Plant Physiology*, 152(February), 500–515. <https://doi.org/10.1104/pp.109.147025>
- Keller, M. M., Jaillais, Y., Pedmale, U. V., Moreno, J. E., Chory, J., & Ballaré, C. L. (2011). Cryptochrome 1 and phytochrome B control shade-avoidance responses in *Arabidopsis* via partially independent hormonal cascades. *Plant Journal*, 67, 195–207. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3113.2011.04598.x>
- Keuskamp, D. H., Pollmann, S., Voeselek, L. A. C. J., Peeters, A. J. M., & Pierik, R. (2010). Auxin transport through PIN-FORMED 3 (PIN3) controls shade avoidance and fitness during competition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(52), 22740–22744. <https://doi.org/10.1073/pnas.1013457108>
- Kim, J. Y., Song, J. T., & Seo, H. S. (2017). COP1 regulates plant growth and development in response to light at the post-translational level. *Journal of Experimental Botany*, 68(17), 4737–4748. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx312>
- Kim, S. Y., Ma, J., Perret, P., Li, Z., & Thomas, T. L. (2002). *Arabidopsis* ABI5 Subfamily Members Have Distinct DNA-Binding and Transcriptional Activities. *Plant Physiology*, 5, 688–697. <https://doi.org/10.1104/pp.003566.minimal>
- Kohnen, Marcus V., Schmid-Siegert, E., Trevisan, M., Allenbach Petrolati, L., Sénéchal, F., Müller-moulé, P., ... Fankhauser, C. (2016). Neighbor Detection Induces Organ-Specific Transcriptomes, Revealing Patterns Underlying Hypocotyl-Specific Growth. *The Plant Cell*, 28(December), 2889–2904. <https://doi.org/10.1105/tpc.16.00463>
- Kohnen, Markus V., Schmid-Siegert, E., Trevisan, M., Petrolati, L. A., Sénéchal, F., Müller-Moulé, P., ... Fankhauser, C. (2016). Neighbor Detection Induces Organ-Specific Transcriptomes, Revealing Patterns Underlying Hypocotyl-Specific Growth. *The Plant Cell*. <https://doi.org/10.1105/tpc.16.00463>
- Koornneef, M., & Jorna, M. L. (1982). The Isolation of Abscisic Acid (ABA) Deficient Mutants by Selection of Induced Revertants in Non-germinating Gibberellin Sensitive Lines of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Theor. Appl. Genet.*, 61, 385–393.
- Kovács, H., Aleksza, D., Baba, A. I., Hajdu, A., Király, A. M., Zsigmond, L., ... Szabados, L. (2019). Light Control of Salt-Induced Proline Accumulation Is Mediated by ELONGATED HYPOCOTYL 5 in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science*, 10(December), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01584>
- Kudo, M., Kidokoro, S., Yoshida, T., Mizoi, J., Kojima, M., & Takebayashi, Y. (2019). A gene-stacking approach to overcome the trade-off between drought stress tolerance and growth in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 97, 240–256. <https://doi.org/10.1111/tpj.14110>
- Kumar, M., Kesawat, M. S., Ali, A., Lee, S., Gill, S. S., & Kim, H. U. (2019). Integration of Abscisic Acid Signaling with Other Signaling Pathways in Plant Stress Responses and Development. *Plants*, 8(592), 1–20. <https://doi.org/10.3390/plants8120592>
- Küpers, J. J., Gelderen, K. Van, & Pierik, R. (2018). Location Matters: Canopy Light Responses over Spatial Scales. *Trends in Plant Science*, xx, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.06.011>
- Kuromori, T., Seo, M., & Shinozaki, K. (2018). ABA Transport and Plant Water Stress Responses. *Trends in Plant Science*, 23(6), 513–522. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.04.001>
- Kurup, S., Jones, H. D., & Holdsworth, M. J. (2000). Interactions of the developmental regulator ABI3 with proteins identified from developing *Arabidopsis* seeds. *The Plant Journal*, 21(2), 143–155.
- Lamers, J., Meer, T. Van Der, & Testerink, C. (2020). How Plants Sense and Respond to Stressful Environments. *Plant Physiology*, 182(April), 1624–1635. <https://doi.org/10.1104/pp.19.01464>
- Lau, O. S., Song, Z., Zhou, Z., Hui, I., Tay, Z., Wigge, P. A., ... Wang, S. (2018). Direct Control of SPEECHLESS by PIF4 in the High-Temperature Response of Stomatal Development Report Direct Control of SPEECHLESS by PIF4 in the High-Temperature Response of Stomatal Development. *Current Biology*, 28(8), 1273–1280.e3. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.02.054>
- Lee, C.-M., & Thomashow, M. F. (2012). Photoperiodic regulation of the C-repeat binding factor (CBF) cold acclimation pathway and freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(37), 15054–15059. <https://doi.org/10.1073/pnas.1211295109>
- Legnaioli, T., Cuevas, J., & Mas, P. (2009). TOC1 functions as a molecular switch connecting the circadian clock with plant responses to drought. *The EMBO Journal*, 28(23), 3745–3757. <https://doi.org/10.1038/emboj.2009.297>
- Legris, M., Ince, Y. C., & Fankhauser, C. (2019). Molecular mechanisms underlying phytochrome-controlled morphogenesis in plants. *Nature Communications*, 10(5219), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13045-0>
- Legris, M., Klose, C., Burgie, E. S., Rojas, C. C., Neme, M., Hiltbrunner, A., ... Casal, J. J. (2016). Phytochrome B

- integrates light and temperature signals in Arabidopsis. *Science*, 354(6314), 897–900. <https://doi.org/10.1126/science.aaf5656>
- Leivar, P., Martín, G., Soy, J., Dalton-Roesler, J., Quail, P. H., & Monte, E. (2020). Phytochrome-imposed inhibition of PIF7 activity shapes photoperiodic growth in Arabidopsis together with PIF1, 3, 4 and 5 Pablo Leivar. *Physiologia Plantarum*. <https://doi.org/10.1111/ppl.13123>
- Leivar, P., Monte, E., Cohn, M. M., & Quail, P. H. (2012). Phytochrome signaling in green Arabidopsis seedlings: impact assessment of a mutually negative phyB-PIF feedback loop. *Molecular Plant*, 5(3), 734–749. <https://doi.org/10.1093/mp/ssso31>
- Leivar, P., Monte, E., Oka, Y., Liu, T., Carle, C., Castillon, A., ... Quail, P. H. (2008). Multiple phytochrome-interacting bHLH transcription factors repress premature seedling photomorphogenesis in darkness. *Current Biology*, 18(23), 1815–1823. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.10.058>
- Leivar, P., Tepperman, J. M., Cohn, M. M., Monte, E., Al-Sady, B., Erickson, E., & Quail, P. H. (2012). Dynamic Antagonism between Phytochromes and PIF Family Basic Helix-Loop-Helix Factors Induces Selective Reciprocal Responses to Light and Shade in a Rapidly Responsive Transcriptional Network in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 24(April), 1398–1419. <https://doi.org/10.1105/tpc.112.095711>
- Léon-Kloosterziel, K. M., Gil, M. A., Ruijs, G. J., Jacobsen, S. E., Olszewski, N. E., Schwartz, S. H., ... Koornneef, M. (1996). Isolation and characterization of abscisic acid-deficient Arabidopsis mutants at two new loci. *The Plant Journal*, 10(4), 655–661. <https://doi.org/https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1996.10040655.x>
- Li, Jian, Terzaghi, W., Gong, Y., Li, C., Ling, J., Gong, X., ... Deng, X. W. (2020). Modulation of BIN2 kinase activity by HY5 controls hypocotyl elongation in the light. *Nature Communications*. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15394-7>
- Li, Jianming, Nam, K. H., Vafeados, D., & Chory, J. (2001). BIN2, a New Brassinosteroid-Insensitive Locus in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 127, 14–22.
- Li, K., Yu, R., Fan, L., Wei, N., Chen, H., & Deng, X. W. (2016). DELLA-mediated PIF degradation contributes to coordination of light and gibberellin signalling in Arabidopsis. *Nature Communications*, 7(May), 1–11. <https://doi.org/10.1038/ncomms11868>
- Li, L., Ljung, K., Breton, G., Schmitz, R. J., Pruneda-Paz, J., Cowing-Zitron, C., ... Chory, J. (2012). Linking photoreceptor excitation to changes in plant architecture. *Genes and Development*, 26(8), 785–790. <https://doi.org/10.1101/gad.187849.112>
- Li, L., Zhang, Q., Pedmale, U. V., Nito, K., Fu, W., Lin, L., ... Chory, J. (2014). PIL1 participates in a negative feedback loop that regulates its own gene expression in response to shade. *Molecular Plant*, 7(10), 1582–1585. <https://doi.org/10.1093/mp/ssuo68>
- Lim, S., Park, J., Lee, N., Jeong, J., Toh, S., Watanabe, A., ... Choi, G. (2013). Interact to Activate the Expression of SOMNUS and Other High-Temperature-Inducible Genes in Imbibed Seeds in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 25(December), 4863–4878. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.118604>
- Ling, J.-J., Li, J., Zhu, D., & Deng, X. W. (2017). Noncanonical role of Arabidopsis COP1/SPA complex in repressing BIN2-mediated PIF3 phosphorylation and degradation in darkness. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(13), 3539–3544. <https://doi.org/10.1073/pnas.1700850114>
- Liu, H., Liu, B., Zhao, C., Pepper, M., & Lin, C. (2011). The action mechanisms of plant cryptochromes. *Trends in Plant Science*, 16(12), 684–691. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.09.002>
- Liu, Q., Wang, Q., Deng, W., Wang, X., Piao, M., Cai, D., ... Lin, C. (2017). Molecular basis for blue light-dependent phosphorylation of Arabidopsis cryptochrome 2. *Nature Communications*, 8(May), 1–12. <https://doi.org/10.1038/ncomms15234>
- Liu, Z., Zhang, Y., Wang, J., Li, P., Zhao, C., Chen, Y., & Bi, Y. (2015). Phytochrome-interacting factors PIF4 and PIF5 negatively regulate anthocyanin biosynthesis under red light in Arabidopsis seedlings. *Plant Science*, 238, 64–72. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.06.001>
- Lopez-Molina, L., Mongrand, S., Mclachlin, D. T., Chait, B. T., & Chua, N. (2002). ABI5 acts downstream of ABI3 to execute an ABA-dependent growth arrest during germination. *The Plant Journal*, 32, 317–328.
- López-Salmerón, V. (2013). *ELF3 regulates cotyledon expansion and hypocotyl growth rhythmicity*. Madrid.
- Lorrai, R., Boccaccini, A., Ruta, V., Possenti, M., Costantino, P., & Paola, V. (2018). ABA inhibits hypocotyl elongation acting on gibberellins, DELLA proteins and auxin. *AoB PLANTS*, 10(5), 1–10. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plyo61>
- Lorrain, S., Allen, T., Duek, P. D., Whitelam, G. C., & Fankhauser, C. (2008). Phytochrome-mediated inhibition of shade avoidance involves degradation of growth-promoting bHLH transcription factors. *Plant Journal*, 53(2), 312–323. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2007.03341.x>
- Lucas, M. De, & Prat, S. (2014). PIFs get BRright : PHYTOCHROME INTERACTING FACTORS as integrators of light and hormonal signals. *New*, 202, 1126–1141.
- Ma, D., Li, X., Guo, Y., Chu, J., Fang, S., Yan, C., ... Liu, H. (2016). Cryptochrome 1 interacts with PIF4 to regulate high temperature-mediated hypocotyl elongation in response to blue light. *PNAS*, 113(1), 224–229. <https://doi.org/10.1073/pnas.1511437113>
- Martín, G., Rovira, A., Veciana, N., Soy, J., Toledo-Ortiz, G., Gommers, C. M. M., ... Monte, E. (2018). Circadian Waves of Transcriptional Repression Growth in Arabidopsis Report Circadian Waves of Transcriptional Repression Shape PIF-Regulated Photoperiod-Responsive Growth in Arabidopsis. *Current Biology*, 28, 311–

318. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.12.021>
- Martínez-garcía, J. F., Galstyan, A., Salla-Martret, M., Cifuentes-esquivel, N., Gallemí, M., & Bou-torrent, J. (2010). Regulatory Components of Shade Avoidance Syndrome. *Advances in Botanical Research*, *53*, 65–116. [https://doi.org/10.1016/S0065-2296\(10\)53003-9](https://doi.org/10.1016/S0065-2296(10)53003-9)
- McNellis, T. W., von Arnim, G., Araki, T., Komeda, Y., Miséra, S., & Deng, X. W. (1994). Genetic and molecular analysis of an allelic series of cop1 mutants suggests functional roles for the multiple protein domains. *The Plant Cell*, *6*(4), 487–500. <https://doi.org/10.1105/tpc.6.4.487>
- Mizuno, T., Nomoto, Y., Oka, H., Kitayama, M., Takeuchi, A., Tsubouchi, M., & Yamashino, T. (2014). Ambient Temperature Signal Feeds into the Circadian Clock Transcriptional Circuitry Through the EC Night-Time Repressor in *Arabidopsis thaliana*. *Plant & Cell Physiology*, *55*(5), 958–976. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcu030>
- Möglich, A., Yang, X., Ayers, R. a., & Moffat, K. (2010). Structure and function of plant photoreceptors. *Annual Review of Plant Biology*, *61*, 21–47. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112259>
- Monte, E., Tepperman, J. M., Al-Sady, B., Kaczorowski, K. A., Alonso, J. M., Ecker, J. R., ... Quail, P. H. (2004). The phytochrome-interacting transcription factor, PIF3, acts early, selectively, and positively in light-induced chloroplast development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *101*(46), 16091–16098. <https://doi.org/10.1073/pnas.0407107101>
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tohaoco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, *15*, 473–497.
- Nagpal, P., Ellis, C. M., Weber, H., Ploense, S. E., Barkawi, L. S., Guilfoyle, T. J., ... Reed, J. W. (2005). Auxin response factors ARF6 and ARF8 promote jasmonic acid production and flower maturation. *Development*, *132*, 4107–4118. <https://doi.org/10.1242/dev.01955>
- Nakamura, S., Lynch, T. J., & Finkelstein, R. R. (2001). Physical interactions between ABA response loci of *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, *26*(6), 627–635.
- Nakamura, Y., Kato, T., Yamashino, T., & Mizuno, T. (2007). Characterization of a Set of Phytochrome- Interacting Factor-Like bHLH Proteins in *Oryza sativa*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, *71*(5), 1183–1191. <https://doi.org/10.1271/bbb.60643>
- 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*(3), 1247–1255.
- Neff, M. M., Fankhauser, C., & Chory, J. (2000). Light: an indicator of time and place. *Genes & Development*, *14*(858), 257–271. <https://doi.org/10.1101/gad.14.3.257>
- Ni, W., Xu, S.-L., González-Grandío, E., Chalkley, R. J., Huhmer, A. F. R., Burlingame, A. L., ... Quail, P. H. (2017a). PPKs mediate direct signal transfer from phytochrome photoreceptors to transcription factor PIF3. *Nature Communications*, *8*(May), 15236. <https://doi.org/10.1038/ncomms15236>
- Ni, W., Xu, S., González-Grandío, E., Chalkley, R. J., Huhmer, A. F. R., Burlingame, A. L., ... Quail, P. H. (2017b). PPKs mediate direct signal transfer from phytochrome photoreceptors to transcription factor PIF3. *Nature Communications*, *8*(15236). <https://doi.org/10.1038/ncomms15236>
- Ni, W., Xu, S., Tepperman, J. M., Stanley, D. J., Maltby, D. A., Gross, J. D., ... Quail, P. H. (2015). A Mutually Assured Destruction Mechanism Attenuates Light Signaling in *Arabidopsis*. *Science*, *344*(6188), 1160–1164. <https://doi.org/10.1126/science.1250778>
- Nieto, C., López-Salmerón, V., Davière, J.-M., & Prat, S. (2015). ELF3-PIF4 Interaction Regulates Plant Growth Independently of the Evening Complex. *Current Biology*, *25*, 187–193. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.10.070>
- Nolan, T., Chen, J., & Yin, Y. (2017). Cross-talk of Brassinosteroid signaling in controlling growth and stress responses. *Biochemical Journal*, *474*(16), 2641–2661. <https://doi.org/10.1042/BCJ20160633>
- Nouri, M., Moumeni, A., & Komatsu, S. (2015). Abiotic Stresses: Insight into Gene Regulation and Protein Expression in Photosynthetic Pathways of Plants. *International Journal of Mole*, *16*, 20392–20416. <https://doi.org/10.3390/ijms160920392>
- Nusinow, D. A., Helfer, A., Hamilton, E. E., King, J. J., Imaizumi, T., Schultz, T. F., ... Farre, E. M. (2011). The ELF4–ELF3–LUX complex links the circadian clock to diurnal control of hypocotyl growth. *Nature*, *475*, 3–9. <https://doi.org/10.1038/nature10182>
- Oh, E., Zhu, J.-Y., Bai, M.-Y., Arenhart, R. a, Sun, Y., & Wang, Z.-Y. (2014). Cell elongation is regulated through a central circuit of interacting transcription factors in the *Arabidopsis* hypocotyl. *ELife*, (e03031). <https://doi.org/10.7554/eLife.03031>
- Oh, E., Zhu, J., & Wang, Z. (2012). Interaction between BZR1 and PIF4 integrates brassinosteroid and environmental responses. *Nature Cell Biology*, *14*(8), 802–809. <https://doi.org/10.1038/ncb2545>
- Oravec, A., Baumann, A., Máté, Z., Brzezinska, A., Molinier, J., Oakeley, E. J., ... Ulm, R. (2006). CONSTITUTIVELY PHOTOMORPHOGENIC1 is Required for the UV-B Response in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, *18*(August), 1975–1990. <https://doi.org/10.1105/tpc.105.040097.2>
- Ortiz-alcaide, M., Llamas, E., Gomez-cadenas, A., Nagatani, A., & Martínez-garcía, J. F. (2019). Chloroplasts Modulate Elongation Responses to Canopy Shade by Retrograde Pathways Involving HY5 and Abscisic Acid. *Plant Physiology*, *175*(February), 384–398. <https://doi.org/10.1105/tpc.18.00617>
- Osmolovskaya, N., Shumilina, J., Kim, A., Didio, A., Grishina, T., Bilova, T., ... Wessjohann, L. A. (2018).

- Methodology of Drought Stress Research: Experimental Setup and Physiological Characterization. *International Journal of Molecular Sciences*, 19, 1–25. <https://doi.org/10.3390/ijms19124089>
- Pacín, M., Legris, M., & Casal, J. J. (2013). COP1 re-accumulates in the nucleus under shade. *The Plant Journal : For Cell and Molecular Biology*, 75(4), 631–641. <https://doi.org/10.1111/tpj.12226>
- Pacín, M., Semmoloni, M., Legris, M., Finlayson, S. A., & Casal, J. J. (2016). Convergence of CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENESIS 1 and PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR signalling during shade avoidance. *New Phytologist*, 211(3), 967–979. <https://doi.org/10.1111/nph.13965>
- Paik, I., & Huq, E. (2019). Plant photoreceptors: Multi-functional sensory proteins and their signaling networks. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 92(April), 114–121. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2019.03.007>
- Paik, I., Kathare, P. K., Kim, J., & Huq, E. (2017). Expanding Roles of PIFs in Signal Integration from Multiple Processes. *Molecular Plant*, 10(8), 1035–1046. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2017.07.002>
- Pardos, M., & Calama, R. (2017). Responses of Pinus pinea seedlings to moderate drought and shade: is the provenance a differential factor? *Photosynthetica*, 55, 786–798. <https://doi.org/10.1007/s11099-017-0732-1>
- Park, E., Kim, J., Lee, Y., Shin, J., Oh, E., Chung, W.-I., ... Choi, G. (2004). Degradation of phytochrome interacting factor 3 in phytochrome-mediated light signaling. *Plant & Cell Physiology*, 45(8), 968–975. <https://doi.org/10.1093/pcp/pch125>
- Passioura, J. (2007). The drought environment: physical, biological and agricultural perspectives, 58(2), 113–117. <https://doi.org/10.1093/jxb/erl212>
- Pedmale, U. V., Huang, S. C., Zander, M., Cole, B. J., Hetzel, J., Ljung, K., ... Chory, J. (2016). Cryptochromes Interact Directly with PIFs to Control Plant Growth in Limiting Blue Light Article Cryptochromes Interact Directly with PIFs to Control Plant Growth in Limiting Blue Light. *Cell*, 164(1–2), 233–245. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.12.018>
- Peng, P., Yan, Z., Zhu, Y., & Li, J. (2008). Regulation of the Arabidopsis GSK3-like Kinase BRASSINOSTEROID-INSENSITIVE 2 through Proteasome-Mediated Protein Degradation. *Molecular Plant*, 1(2), 338–346. <https://doi.org/10.1093/mp/ssn001>
- Pham, V. N., Kathare, P. K., & Huq, E. (2017). Phytochromes and Phytochrome Interacting Factors. *Plant Physiology*, 176(February), pp.01384.2017. <https://doi.org/10.1104/pp.17.01384>
- Procko, C., Burko, Y., Jaillais, Y., Ljung, K., Long, J. A., & Chory, J. (2016). The epidermis coordinates auxin-induced stem growth in response to shade. *Genes And*, 30, 1529–1541. <https://doi.org/10.1101/gad.283234.116>
- Procko, C., Crenshaw, C. M., Ljung, K., Noel, J. P., & Chory, J. (2014). Cotyledon-Generated Auxin Is Required for Shade-Induced Hypocotyl Growth in Brassica rapa. *Plant Physiology*, 165(July), 1285–1301. <https://doi.org/10.1104/pp.114.241844>
- Pruneda-Paz, J. L., Breton, G., Para, A., & Kay, S. A. (2009). A Functional Genomics Approach Reveals CHE as a Component of the Arabidopsis Circadian Clock. *Science*, 323(5920), 1481 LP – 1485. <https://doi.org/10.1126/science.1167206>
- Pucciariello, O., Legris, M., Costigliolo, C., José, M., Esteban, C., Dezar, C., ... Casal, J. J. (2018). Rewiring of auxin signaling under persistent shade, 2–7. <https://doi.org/10.1073/pnas.1721110115>
- Pucciariello, O., Legris, M., Costigliolo Rojas, C., Iglesias, M. J., Hernando, C. E., Dezar, C., ... Casal, J. J. (2018). Rewiring of auxin signaling under persistent shade. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(21), 5612–5617. <https://doi.org/10.1073/pnas.1721110115>
- Quero, J. L., Villar, R., Marañón, T., & Zamora, R. (2006). Interactions of drought and shade effects on seedlings of four Quercus species: Physiological and structural leaf responses. *New Phytologist*, 170(4), 819–834. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01713.x>
- Rademacher, E. H., Möller, B., Lokerse, A. S., Llavata-Peris, C. I., Van Den Berg, W., & Weijers, D. (2011). A cellular expression map of the Arabidopsis AUXIN RESPONSE FACTOR gene family. *Plant Journal*, 68(4), 597–606. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04710.x>
- Reddy, S. K., Holalu, S. V., Casal, J. J., & Finlayson, S. A. (2013). Abscisic Acid Regulates Axillary Bud Outgrowth Responses to the Ratio of Red to Far-Red Light. *Plant Physiology*, 163(October), 1047–1058. <https://doi.org/10.1104/pp.113.221895>
- Reed, J. W., Nagpal, P., Poole, D. S., Furuya, M., & Chory, J. (1993). Mutations in the Gene for the Red / Far-Red Light Receptor Phytochrome B Alter Cell Elongation and Physiological Responses throughout Arabidopsis Development. *The Plant Cell*, 5(February), 147–157.
- Reed, J. W., Wu, M., Reeves, P. H., Hodgins, C., Yadav, V., Hayes, S., ... Carolina, N. (2018). Three Auxin Response Factors Promote Hypocotyl Elongation, 178(October), 864–875. <https://doi.org/10.1104/pp.18.00718>
- Reisman-Berman, O., & Kadmon, R. (2017). Repertoire of traits in the sapling of a dwarf Mediterranean shrub confers withstanding the combined stress of drought and shade. *Israel Journal of Plant Sciences*, 9978(March), 1–10. <https://doi.org/10.1080/07929978.2016.1275366>
- Rohde, A., Kurup, S., & Holdsworth, M. (2000). ABI3 emerges from the seed. *Trends in Plant Science*, 5(10), 418–419.
- Roig-Villanova, I., Bou-Torrent, J., Galstyan, A., Carretero-Paulet, L., Portolés, S., Rodríguez-Concepción, M., & Martínez-García, J. F. (2007). Interaction of shade avoidance and auxin responses: a role for two novel atypical bHLH proteins. *The EMBO Journal*, 26(22), 4756–4767. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601890>
- Roig-Villanova, I., Bou, J., Sorin, C., Devlin, P. F., & Martínez-García, J. F. (2006). Identification of Primary Target

- Genes of Phytochrome Signaling . Early Transcriptional Control during Shade Avoidance Responses in Arabidopsis 1. *Plant Physiology*, 141(May), 85–96. <https://doi.org/10.1104/pp.105.076331.photointerconvertible>
- Roig-Villanova, I., & Martínez-García, J. F. (2016). Plant Responses to Vegetation Proximity: A Whole Life Avoiding Shade. *Frontiers in Plant Science*, 7(February), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00236>
- Sack, L., & Grubb, P. J. (2002). The combined impacts of deep shade and drought on the growth and biomass allocation of shade-tolerant woody seedlings. *Oecologia*, 131(2), 175–185. <https://doi.org/10.1007/s00442-002-0873-0>
- Sakuraba, Y., Bülbül, S., Piao, W., Choi, G., & Paek, N. C. (2017). Arabidopsis EARLY FLOWERING3 increases salt tolerance by suppressing salt stress response pathways. *Plant Journal*, 92(6), 1106–1120. <https://doi.org/10.1111/tpj.13747>
- Sakuraba, Y., Jeong, J., Kang, M., Kim, J., Paek, N., & Choi, G. (2014a). Phytochrome-interacting transcription factors PIF4 and PIF5 induce leaf senescence in Arabidopsis. *Nature Communications*, 5, 1–13. <https://doi.org/10.1038/ncomms5636>
- Sakuraba, Y., Jeong, J., Kang, M. Y., Kim, J., Paek, N. C., & Choi, G. (2014b). Phytochrome-interacting transcription factors PIF4 and PIF5 induce leaf senescence in Arabidopsis. *Nature Communications*, 5, 1–13. <https://doi.org/10.1038/ncomms5636>
- Salehin, M., Bagchi, R., & Estelle, M. (2015). SCF TIR1 / AFB -Based Auxin Perception : Mechanism and Role in Plant Growth and Development, 27(January), 9–19. <https://doi.org/10.1105/tpc.114.133744>
- Sato, A., Sato, Y., Fukao, Y., Fujiwara, M., Umezawa, T., Shinozaki, K., ... UOZUMI, N. (2009). Threonine at position 306 of the KAT1 potassium channel is essential for channel activity and is a target site for ABA-activated SnRK2 / OST1 / SnRK2 . 6 protein kinase. *Biochemical Journal*, 448, 439–448. <https://doi.org/10.1042/BJ20091221>
- Scharwies, J. D., & Dinneny, J. R. (2019). Water transport , perception , and response in plants. *Journal of Plant Research*, 132(3), 311–324. <https://doi.org/10.1007/s10265-019-01089-8>
- Sellaro, R., Crepy, M., Trupkin, S. A., Karayekov, E., Buchovsky, A. S., Rossi, C., & Casal, J. J. (2010). Cryptochrome as a sensor of the blue/green ratio of natural radiation in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 154(1), 401–409. <https://doi.org/10.1104/pp.110.160820>
- Sellaro, R., Pac, M., & Casal, J. J. (2017). Meta-Analysis of the Transcriptome Reveals a Core Set of Shade-Avoidance Genes in Arabidopsis †. *Photochemistry and Photobiology*, 93(24), 692–702. <https://doi.org/10.1111/php.12729>
- Sellaro, R., Pacin, M., & Casal, J. J. (2012). Diurnal dependence of growth responses to shade in Arabidopsis: role of hormone, clock, and light signaling. *Molecular Plant*, 5(3), 619–628. <https://doi.org/10.1093/mp/ssr122>
- Sellaro, R., Yanovsky, M. J., & Casal, J. J. (2011). Repression of shade-avoidance reactions by sunfleck induction of HY5 expression in Arabidopsis. *The Plant Journal: For Cell and Molecular Biology*, 68(5), 919–928. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04745.x>
- Sessa, G., Carabelli, M., Sassi, M., Ciolfi, A., Possenti, M., Mitterpergher, F., ... Ruberti, I. (2005). A dynamic balance between gene activation and repression regulates the shade avoidance response in Arabidopsis. *Genes and Development*, 19, 2811–2815. <https://doi.org/10.1101/gad.364005>
- Seung, D., Pablo, J., Risopatron, M., Jones, B. J., & Marc, J. (2011). Circadian clock-dependent gating in ABA signalling networks. *Protoplasma*, (May). <https://doi.org/10.1007/s00709-011-0304-3>
- Shahnejat-Bushehri, S., Tarkowska, D., Sakuraba, Y., & Balazadeh, S. (2016). Arabidopsis NAC transcription factor JUB1 regulates GA/BR metabolism and signalling. *Nature Plants*, 2(3), 1–9. <https://doi.org/10.1038/NPLANTS.2016.13>
- Sharma, R., Singh, G., Bhattacharya, S., & Singh, A. (2018). Comparative transcriptome meta-analysis of Arabidopsis thaliana under drought and cold stress. *PLoS ONE*, 13(9), 1–18.
- Sharp, R.E., & Davies, W. J. (1979). Solute Regulation and Growth by Roots and Shoots of Water-Stressed Maize Plants R.E. *Planta*, 147, 43–49.
- Sharp, Robert E, Lenoble, M. E., Else, M. A., Thorne, E. T., & Gherardi, F. (2000). Endogenous ABA maintains shoot growth in tomato independently of effects on plant water balance: evidence for an interaction with ethylene, 51(350), 1575–1584.
- Sharp, Robert E, Silk, W. K., & Hsiao, T. C. (1988). Growth of the Maize Primary Root at Low Water Potentials. *Plant Physiology*, 87, 50–57.
- Sheerin, D. J., Menon, C., Oven-krockhaus, S. zur, Enderle, B., Zhu, L., Johnen, P., ... Hiltbrunner, A. (2015). Light-Activated Phytochrome A and B Interact with Members of the SPA Family to Promote Photomorphogenesis in Arabidopsis by Reorganizing the COP1 / SPA Complex. *The Plant Cell*, 27(January), 189–201. <https://doi.org/10.1105/tpc.114.134775>
- Shen, Y., Khanna, R., Carle, C. M., & Quail, P. H. (2007). Phytochrome induces rapid PIF5 phosphorylation and degradation in response to red-light activation. *Plant Physiology*, 145(November), 1043–1051. <https://doi.org/10.1104/pp.107.105601>
- Shi, H., Shen, X., Liu, R., Xue, C., Wei, N., Deng, X. W., & Zhong, S. (2016). The Red Light Receptor Phytochrome B Directly Enhances Substrate-E3 Ligase Interactions to Attenuate Ethylene Responses Article The Red Light Receptor Phytochrome B Directly Enhances Substrate-E3 Ligase Interactions to Attenuate Ethylene

- Responses. *Developmental Cell*, 39(5), 597–610. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2016.10.020>
- Simon, N. M. L., Graham, C. A., Comben, N. E., Hetherington, A. M., & Dodd, A. N. (2020). The circadian clock influences the long-term water use efficiency of Arabidopsis. *Plant Physiology*, 183(1), 317–330. <https://doi.org/10.1104/pp.20.00030>
- Sirichandra, C., Gu, D., Hu, H., Davanture, M., Lee, S., Djaoui, M., ... Kwak, J. M. (2009). Phosphorylation of the Arabidopsis AtrbohF NADPH oxidase by OST1 protein kinase. *FEBS Letters*, 583(18), 2982–2986. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2009.08.033>
- Skirycz, A., Bodt, S. De, Obata, T., Clercq, I. De, Claeys, H., Rycke, R. De, ... Inze, D. (2010). Developmental Stage Specificity and the Role of Mitochondrial Metabolism in the Response of Arabidopsis Leaves to Prolonged Mild Osmotic Stress. *Plant Physiology*, 152(January), 226–244. <https://doi.org/10.1104/pp.109.148965>
- Skirycz, A., & Inze, D. (2010). More from less : plant growth under limited water. *Current Opinion in Plant Biology*, 21, 197–203. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2010.03.002>
- 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(December), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01884>
- Smith, H. (1982). Light quality, photoperception, and plant strategy. *Annual Review of Plant Biology*, 33, 481–518.
- Song, Y., Yang, C., Gao, S., Zhang, W., Li, L., & Kuai, B. (2014). Age-Triggered and Dark-Induced Leaf Senescence Require the bHLH Transcription Factors PIF₃, 4, and 5. *Molecular Plant*, 7(12), 1776–1787. <https://doi.org/10.1093/mp/ssu109>
- Soy, J., Leivar, P., González-Schain, N., Sentandreu, M., Prat, S., Quail, P. H., & Monte, E. (2012). Phytochrome-imposed oscillations in PIF₃ protein abundance regulate hypocotyl growth under diurnal light/dark conditions in Arabidopsis. *The Plant Journal: For Cell and Molecular Biology*, 71(3), 390–401. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2012.04992.x>
- Spollen, W. G., Lenoble, M. E., Samuels, T. D., Bernstein, N., & Sharp, R. E. (2000). Abscisic Acid Accumulation Maintains Maize Primary Root Elongation at Low Water Potentials by Restricting Ethylene Production, 122(March), 967–976.
- Storey, J. D., & Tibshirani, R. (2003). Statistical significance for genomewide studies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(16), 9440–9445.
- Sun, Q., Wang, S., Xu, G., Kang, X., Zhang, M., & Ni, M. (2019). SHB1 and CCA1 interaction desensitizes light responses and enhances thermomorphogenesis. *Nature Communications*, 10(3110). <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11071-6>
- Szemenyei, H., Hannon, M., & Long, J. A. (2013). TOPLESS Mediates Auxin-Dependent Transcriptional Repression During Arabidopsis Embryogenesis. *Science*, 338(6008), 1384–1386. <https://doi.org/10.1126/science.1151461>
- Takahashi, F., Suzuki, T., Osakabe, Y., Betsuyaku, S., Kondo, Y., Dohmae, N., ... Shinozaki, K. (2018). A small peptide modulates stomatal control via abscisic acid in long-distance signalling. *Nature*, 25. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0009-2>
- Tan, B.-C., Joseph, L. M., Deng, W., Liu, L., Li, Q., Cline, K., & McCarty, D. R. (2003). Molecular characterization of the Arabidopsis η -cis epoxy-carotenoid dioxygenase gene family. *The Plant Journal*, 35(October 2019), 44–56. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01786.x>
- Tao, Y., Ferrer, J. L., Ljung, K., Pojer, F., Hong, F., Long, J. A., ... Chory, J. (2008). Rapid Synthesis of Auxin via a New Tryptophan-Dependent Pathway Is Required for Shade Avoidance in Plants. *Cell*, 133(1), 164–176. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.01.049>
- Tardieu, F. (2016). Too many partners in root – shoot signals. Does hydraulics qualify as the only signal that feeds back over time for reliable stomatal. *New Phytologist*, 212, 802–804.
- Tardieu, F., Simonneau, T., & Muller, B. (2018). The Physiological Basis of Drought Tolerance in Crop Plants : A Scenario-Dependent Probabilistic Approach. *Annual Review of Plant Biology*, 69, 733–759.
- Tischer, S. V., Wunschel, C., Papacek, M., Kleigrew, K., Hofmann, T., Christmanna, A., & Grill, E. (2017). Combinatorial interaction network of abscisic acid receptors and coreceptors from Arabidopsis thaliana. *PNAS*, 114(38), 10280–10285. <https://doi.org/10.1073/pnas.1706593114>
- Todaka, D., Nakashima, K., Maruyama, K., Kidokoro, S., Osakabe, Y., Ito, Y., ... Yamaguchi-Shinozaki, K. (2012). Rice phytochrome-interacting factor-like protein OsPIL1 functions as a key regulator of internode elongation and induces a morphological response to drought stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(39), 15947–15952. <https://doi.org/10.1073/pnas.1207324109>
- Todaka, D., Daisuke, Takahashi, F., Yamaguchi-Shinozaki, K., & Shinozakib, K. (2019). ABA-responsive gene expression in response to drought stress : cellular regulation and long-distance signaling. *Advances in Botanical Research* (Vol. 92). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2019.05.001>
- Toledo-ortiz, G., Johansson, H., Lee, K. P., Bou-torrent, J., Stewart, K., Steel, G., ... Halliday, K. J. (2014). The HY5-PIF Regulatory Module Coordinates Light and Temperature Control of Photosynthetic Gene Transcription. *PLoS Genetics*, 10(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004416>
- Trenberth, K. E., Dai, A., Schrier, G. Van Der, Jones, P. D., Barichivich, J., Briffa, K. R., & Sheffield, J. (2014). Global warming and changes in drought. *Nature Climate Change*, 4(January), 17–22. <https://doi.org/10.1038/NCLIMATE2067>
- Trupkin, S. A., Legris, M., Buchovsky, A. S., Tolava Rivero, M. B., & Casal, J. J. (2014). Phytochrome B Nuclear

- Bodies Respond to the Low Red to Far-Red Ratio and to the Reduced Irradiance of Canopy Shade in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 165(4), 1698–1708. <https://doi.org/10.1104/pp.114.242438>
- Uno, Y., Furihata, T., Abe, H., Yoshida, R., Shinozaki, K., & Yamaguchi-shinozaki, K. (2000). Arabidopsis basic leucine zipper transcription factors involved in an abscisic acid-dependent signal transduction pathway under drought and high-salinity conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97, 11632–11637.
- Verslues, P. E. (2016). ABA and cytokinins : challenge and opportunity for plant stress research. *Plant Molecular Biology*. <https://doi.org/10.1007/s11103-016-0458-7>
- Verslues, P. E., Agarwal, M., Katiyar-agarwal, S., Zhu, J., & Zhu, J. (2006). Methods and concepts in quantifying resistance to drought , salt and freezing , abiotic stresses that affect plant water status, 523–539. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2005.02593.x>
- Verslues, P. E., Ober, E. S., & Sharp, R. E. (1998). Root Growth and Oxygen Relations at Low Water Potentials . Glycol Solutions 1. *Plant Physiology*, 116, 1403–1412. <https://doi.org/10.1104/pp.116.4.1403>
- Vilela, B., Pagès, M., & Riera, M. (2015). Emerging roles of protein kinase CK2 in abscisic acid signaling. *Frontiers in Plant Science*, 6(November), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00966>
- Wang, X., Gao, X., Liu, Y., Fan, S., & Ma, Q. (2020). Progress of Research on the Regulatory Pathway of the Plant Shade-Avoidance Syndrome. *Frontiers in Plant Science*, 11(April), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00439>
- Wang, Z., Casas-Mollano, J. A., Xu, J., Riethoven, J.-J. M., Zhang, C., & Cerutti, H. (2015). Osmotic stress induces phosphorylation of histone H3 at threonine 3 in pericentromeric regions of *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(27), 8487–8492. <https://doi.org/10.1073/pnas.1423325112>
- Weele, C. M. Van Der, Spollen, W. G., Sharp, R. E., & Baskin, T. I. (2000). Growth of Arabidopsis thaliana seedlings under water deficit studied by control of water potential in nutrient-agar media. *Journal of Experimental Botany*, 51(March 2016), 1555–1562. <https://doi.org/10.1093/jexbot/51.350.1555>
- Wilkins, O., Bräutigam, K., & Campbell, M. M. (2010). Time of day shapes Arabidopsis drought transcriptomes. *The Plant Journal*, 63, 715–727. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2010.04274.x>
- Won, C., Shen, X., Mashiguchi, K., Zheng, Z., Dai, X., Cheng, Y., ... Zhao, Y. (2011). Conversion of tryptophan to indole-3-acetic acid by TRYPTOPHAN AMINOTRANSFERASES OF ARABIDOPSIS and YUCCAs in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(45), 18518–18523. <https://doi.org/10.1073/pnas.1108436108>
- Wu, J., Wang, W., Xu, P., Pan, J., Zhang, T., Li, Y., ... Lian, H. (2019). phyB Interacts with BES1 to Regulate Brassinosteroid Signaling in Arabidopsis Jun. *Plant & Cell Physiology*, 60(2), 353–366.
- Wu, Y., Sharp, R. E., Durachko, D. M., & Cosgrove, D. J. (1996). Growth Maintenance of the Maize Primary Root at Low Water Potentials Involves Increases in Cell-Wall Extension Properties , Expansin Activity , and Wall Susceptibility to Expansins '. *Plant Physiology*, 111, 765–772.
- Wu, Y., Thorne, E. T., Sharp, R. E., & Cosgrove, D. J. (2001). Modification of Expansin Transcript Levels in the Maize Primary Root at Low Water Potentials. *Plant Physiology*, 126, 1471–1479.
- Xu, Z., Kim, H. D., & Hwang, I. (2013). ABA homeostasis and signaling involving multiple subcellular compartments and multiple receptors. *Plant Cell Reports*, 32, 807–813. <https://doi.org/10.1007/s00299-013-1396-3>
- Yang, Y., Hammes, U. Z., Taylor, C. G., Schachtman, D. P., & Nielsen, E. (2006). Report High-Affinity Auxin Transport by the AUX1 Influx Carrier Protein. *Current Biology*, 16, 1123–1127. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.04.029>
- Ye, H., Liu, S., Tang, B., Chen, J., Xie, Z., Nolan, T. M., ... Yin, Y. (2017). RD26 mediates crosstalk between drought and brassinosteroid signalling pathways. *Nature Communications*, 8, 1–13. <https://doi.org/10.1038/ncomms14573>
- 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(7), 625–635. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.04.008>
- Zagotta, M. T., Hicks, K. A., Jacobs, C. I., Young, J. C., Hangarter, R. P., & Meeks-Wagner, D. R. (1996). The Arabidopsis ELF3 gene regulates vegetativa photomorphogenesis and the photoperiodic induction of flowering. *The Plant Cell*, 10(4), 691–702.
- Zelicourt, A. De, Colcombet, J., & Hirt, H. (2016). The Role of MAPK Modules and ABA during Abiotic Stress Signaling. *Trends in Plant Science*, 21(8), 677–685. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.04.004>
- Zhang, B., Holmlund, M., Lorrain, S., Norberg, M., Bakó, L. S., Fankhauser, C., & Nilsson, O. (2017). BLADE-ON-PETIOLE proteins act in an E3 ubiquitin ligase complex to regulate PHYTOCHROME INTERACTING FACTOR 4 abundance. *ELife*, 6, 1–19. <https://doi.org/10.7554/eLife.26759>
- Zhang, Y., Mayba, O., Pfeiffer, A., Shi, H., Tepperman, J. M., Speed, T. P., & Quail, P. H. (2013). A quartet of PIF bHLH factors provides a transcriptionally centered signaling hub that regulates seedling morphogenesis through differential expression-patterning of shared target genes in Arabidopsis. *PLoS Genetics*, 9(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003244>
- Zhao, Y., Zhang, Z., Gao, J., Wang, P., Hu, T., Wang, Z., ... Zhu, J.-K. (2018). Arabidopsis Duodecuple Mutant of PYL ABA Receptors Reveals PYL Repression of ABA- Article Arabidopsis Duodecuple Mutant of PYL ABA Receptors Reveals PYL Repression of ABA-Independent SnRK2 Activity. *Cell Reports*, 23(11), 3340–3351.e5.

- <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.05.044>
- Zheng, H., Zhang, F., Wang, S., Su, Y., Jiang, P., Cheng, R., ... Ding, Y. (2017). MLK1 and MLK2 coordinate RGA and CCA1 activity to regulate hypocotyl elongation in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell*, tpc.00830.2017. <https://doi.org/10.1105/tpc.17.00830>
- Zheng, X., Wu, S., Zhai, H., Zhou, P., Song, M., Su, L., ... Yang, J. (2013). Arabidopsis phytochrome B promotes SPA1 nuclear accumulation to repress photomorphogenesis under far-red light. *The Plant Cell*, 25(January), 115–133. <https://doi.org/10.1105/tpc.112.107086>
- Zhu, J. (2002). SALT AND DROUGHT STRESS SIGNALING. *Annual Review of Plant Biology*, 53, 247–273. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.53.091401.143329>
- Zhu, J. (2016). Abiotic Stress Signaling and Responses in Plants. *Cell*, 167(2), 313–324. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.08.029>

Anexo

Figura 1

A- Tomate

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>
Intercepción	3.684	0.335	11.007	6.35E-17
C. lumínica	-0.460	0.559	-0.822	0.414
C. lumínica * C. hídrica	3.491	0.625	5.583	4.19E-07

B- Arveja

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>
Intercepción	7.038	0.858	8.206	0.0000
C. lumínica	-0.947	1.435	-0.660	0.512
C. lumínica * C. hídrica	8.127	1.656	4.907	9.20E-06

Figura 2

A- Tomate

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>
Intercepción	3.208	0.132	24.292	6.86E-60
C. Hídrica	1.161	0.176	6.584	4.45E-10
log(LAI)	0.784	0.200	3.919	1.24E-04
C. Hídrica * log(LAI)	1.176	0.284	4.140	5.25E-05

B- *A. thaliana*

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>
Intercepción	1.546	0.020	77.560	0.00E+00
log(LAI)	0.652	0.040	16.285	8.67E-50
C. Hídrica * log(LAI)	-0.401	0.046	-8.782	1.61E-17

Figura 3

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>
Intercepción	0.008	0.001	8.988	8.45E-18
C. lumínica	0.012	0.001	8.077	7.00E-15
C. lumínica * C. hídrica	0.024	0.002	14.943	7.66E-41

Figura 4

Col-0-*aba2*

<i>Variable</i>	<i>Coefficientes</i>	<i>Error estándar</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>
Intercepción	0.009	0.001	10.440	<0,0001
Luz (ctrol0, sh1)	0.037	0.001	28.160	<0,0001
Luz*ABA	-0.002	0.000	-8.240	<0,0001
Luz*ABA2	0.013	0.002	6.870	<0,0001
luz*ABA*aba2	-0.002	0.000	-3.460	0.0006

Ler-*aba1*

<i>Variable</i>	<i>Coefficientes</i>	<i>Error estándar</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>
Intercepción	0.011	0.001	8.810	<0,0001
Luz (ctrol0, sh1)	0.033	0.002	21.140	<0,0001
Luz*ABA	-0.002	0.000	-7.140	<0,0001
Luz*ABA1	0.025	0.003	9.830	<0,0001
Luz*ABA*ABA1	-0.003	0.001	-2.540	0.0113

Figura 5

NCED3				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error estándar	T	P
Intercepción	0.012	0.001	9.480	<0.0001
C. lumínica (sombra=1)	0.031	0.002	17.840	<0.0001
C. hídrica (control=1)	0.014	0.003	5.220	<0.0001
C. hídrica*C. lumínica	0.037	0.004	9.840	<0.0001
C. lumínica*NCED3	-0.007	0.003	-2.540	0.0113
NCED3*C. hídrica*C. lumínica	0.014	0.004	3.510	0.0005

ABA2				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error estándar	T	P
Intercepción	0.011	0.001	9.540	<0.0001
C. lumínica (sombra=1)	0.025	0.002	10.690	<0.0001
C. hídrica (control=1)	0.008	0.002	4.700	<0.0001
C. hídrica*C. lumínica	0.031	0.003	9.750	<0.0001
C. lumínica*ABA2	0.007	0.002	3.060	0.0022
ABA2*C. hídrica*C. lumínica	0.019	0.003	5.670	<0.0001

ABIS				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error estándar	T	P
Intercepción	0.011	0.001	9.070	<0.0001
C. lumínica (sombra=1)	0.017	0.002	7.060	<0.0001
C. hídrica (control=1)	0.009	0.002	5.040	<0.0001
C. hídrica*C. lumínica	0.041	0.003	12.050	<0.0001
C. lumínica*ABIS	0.015	0.003	5.890	<0.0001
ABIS*C. hídrica*C. lumínica	0.008	0.004	2.120	0.0339

ABI3				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error estándar	T	P
Intercepción	0.011	0.001	7.970	<0.0001
C. lumínica (sombra=1)	0.009	0.005	2.020	4.340E-02
C. hídrica (control=1)	0.019	0.005	4.230	<0.0001
C. hídrica*C. lumínica	0.049	0.003	17.460	<0.0001
C. lumínica*ABI3	0.023	0.004	5.350	<0.0001
ABI3*C. hídrica*C. lumínica	-0.01111	0.004	-2.560	0.011

Figura 6

PIF4				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error estándar	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.536	0.031	17.339	2.27E-48
C. lumínica (sombra=1)	0.128	0.033	3.917	1.09E-04
C. hídrica*C. lumínica	0.621	0.030	20.439	1.25E-60
C. lumínica*PIF4	0.155	0.013	12.007	8.14E-28
PIF4*C. hídrica*C. lumínica	-0.049	0.022	-2.254	2.48E-02

PIF4 PIF5				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error estándar	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.809	0.039	20.650	<0.0001
C. lumínica (sombra=1)	0.371	0.070	5.260	<0.0001
PIF4 PIF5 (col=0=1)	0.124	0.050	2.460	1.50E-02
C. hídrica*C. lumínica	0.187	0.074	2.540	1.22E-02
C. lumínica*PIF4PIF5	0.273	0.091	3.020	3.00E-03
PIF4PIF5*C. hídrica*C. lumínica	0.336	0.097	3.460	7.00E-04

PIF3 PIF4 PIF5				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error estándar	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.743	0.035	21.190	<0.0001
C. hídrica (control=1)	0.083	0.035	2.390	1.81E-02
C. lumínica (sombra=1)	0.323	0.042	7.670	<0.0001
PIF3 PIF4 PIF5 (col=0=1)	0.137	0.042	3.260	1.30E-03
C. lumínica*PIF3 PIF4 PIF5	0.373	0.071	5.270	<0.0001
PIF3 PIF4 PIF5*C. hídrica*C. lumínica	0.440	0.068	6.470	<0.0001

Figura 7

phyB

Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.495	0.098	5.040	<0,001
C. hídrica (Ψa corregido)	1.948	0.151	12.930	<0,001
C. lumínica (LB = 1)	-0.329	0.134	-2.460	0.0142
C. hídrica*PHYB	0.964	0.108	8.920	<0,001
C. hídrica*C. lumínica	-1.467	0.193	-7.610	<0,001

hy5

Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.539	0.079	6.780	<0,001
C. hídrica (Ψa corregido)	2.002	0.143	14.040	<0,001
C. lumínica (LB = 1)	-0.297	0.114	-2.610	0.0092
C. hídrica*HY5	2.536	0.141	17.950	<0,001
C. hídrica*C. lumínica	-1.702	0.203	-8.400	<0,001
C. hídrica*C. lumínica* HY5	-1.537	0.203	-7.580	<0,001

elf3

Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.309	0.075	4.140	<0,001
C. hídrica (Ψa corregido)	2.448	0.149	16.400	<0,001
C. hídrica* ELF3	4.020	0.170	23.670	<0,001
C. hídrica*C. lumínica	-2.384	0.172	-13.830	<0,001
C. hídrica*C. lumínica* ELF3	-3.841	0.241	-15.950	<0,001

OX PIF4

Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.324	0.106	3.060	0.0025
C. hídrica (Ψa corregido)	2.224	0.227	9.820	<0,001
C. hídrica*OxPIF4	1.969	0.261	7.550	<0,001
C. hídrica*C. lumínica	-1.711	0.263	-6.500	<0,001
C. hídrica*C. lumínica*OxPIF4	-0.898	0.363	-2.470	0.0141

OX PIF5

Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.275	0.086	3.190	0.0016
C. hídrica (Ψa corregido)	2.432	0.173	14.060	<0,001
C. hídrica*OXPIF4	0.841	0.149	5.630	<0,001
C. hídrica*C. lumínica	-2.000	0.146	-13.680	<0,001

gai rga rgl1 rgl3 (dellax4)

Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.718	0.073	9.820	<0,001
C. hídrica (Ψa corregido)	1.360	0.110	12.410	<0,001
C. lumínica	-0.476	0.112	-4.270	<0,001
C. hídrica*C. lumínica	-0.852	0.171	-4.980	<0,001

arf6

Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.420	0.090	4.690	<0,001
ARF6 (arf6 = 1)	-0.419	0.103	-4.090	0.0001
C. hídrica (Ψa corregido)	1.618	0.113	14.360	<0,001
C. lumínica (LB = 1)	-0.261	0.109	-2.400	0.0170
C. lumínica*ARF6	0.403	0.088	4.560	<0,001
C. hídrica*ARF6	-0.316	0.127	-2.490	0.0132
C. hídrica*C. lumínica	-1.221	0.125	-9.750	<0,001

cop1

Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.296	0.045	6.600	<0,001
C. hídrica (Ψa corregido)	2.117	0.083	25.510	<0,001
C. hídrica*COP1	-1.480	0.091	-16.260	<0,001
C. hídrica*C. lumínica	-1.711	0.091	-18.910	<0,001
C. hídrica*C. lumínica*COP1	1.252	0.134	9.320	<0,001

pif3

Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.451	0.053	8.510	<0,001
C. hídrica (Ψa corregido)	1.768	0.083	21.370	<0,001
C. lumínica (LB = 1)	-0.272	0.073	-3.700	0.0002
C. hídrica* PIF3	-0.368	0.075	-4.900	<0,001
C. hídrica*C. lumínica	-1.290	0.116	-11.160	<0,001
C. hídrica*C. lumínica*PIF3	0.330	0.108	3.050	0.0023

pif4

Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.339	0.034	10.040	<0,001
C. hídrica (Ψa corregido)	1.938	0.056	34.880	<0,001
C. lumínica (LB = 1)	-0.145	0.048	-3.030	0.0025
C. hídrica* PIF4	-0.478	0.055	-8.620	<0,001
C. hídrica*C. lumínica	-1.376	0.079	-17.470	<0,001
C. hídrica*C. lumínica*PIF4	0.359	0.078	4.590	<0,001

pif5

Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.410	0.050	8.150	<0,001
C. hídrica (Ψa corregido)	1.818	0.080	22.850	<0,001
C. lumínica (LB = 1)	-0.228	0.073	-3.130	0.0018
C. hídrica* PIF5	-0.641	0.080	-7.990	<0,001
C. hídrica*C. lumínica	-1.344	0.114	-11.760	<0,001
C. hídrica*C. lumínica*PIF5	0.579	0.116	4.990	<0,001

pif7

Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción				
C. hídrica*C. lumínica				
C. hídrica*PIF7				
C. hídrica*C. lumínica*PIF7				
C. hídrica				

pif3pif4

Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.419	0.079	5.330	<0,001
C. hídrica (Ψa corregido)	1.673	0.117	14.350	<0,001
C. lumínica (LB = 1)	-0.259	0.108	-2.400	0.0167
C. hídrica* PIF3 PIF4	-0.672	0.098	-6.850	<0,001
C. hídrica*C. lumínica	-1.233	0.160	-7.730	<0,001
C. hídrica*C. lumínica*PIF3 PIF4	0.534	0.144	3.720	0.0002

pif4pif5

Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.436	0.083	5.270	<0,001
C. hídrica (Ψa corregido)	1.653	0.122	13.600	<0,001
C. lumínica (LB = 1)	-0.261	0.114	-2.290	0.0228
C. hídrica* PIF4 PIF5	-0.859	0.122	-7.060	<0,001
C. hídrica*C. lumínica	-1.230	0.167	-7.380	<0,001
C. hídrica*C. lumínica*PIF4 PIF5	0.606	0.175	3.470	0.0006

pif3pif4pif5

Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.447	0.076	5.850	<0,001
C. hídrica (Ψa corregido)	1.639	0.114	14.400	<0,001
C. lumínica (LB = 1)	-0.274	0.104	-2.630	0.0089
C. hídrica* PIF4 PIF5	-1.248	0.096	-12.960	<0,001
C. hídrica*C. lumínica	-1.213	0.156	-7.790	<0,001
C. hídrica*C. lumínica*PIF4 PIF5	1.171	0.148	7.900	<0,001

Figura 8

A- 4h

PIN3-peciolo				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.906	0.063	14.269	5.54E-31
C. lumínica	-0.277	0.073	-3.792	2.07E-04
C. hídrica	0.541	0.073	7.417	5.23E-12

PIN3-hipocotilo				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.904	0.072	12.551	4.98E-26
C. hídrica	0.508	0.091	5.579	0.000
C. hídrica*C. lumínica	-0.311	0.103	-3.016	2.95E-03

B- 1,5 d

PIN3-peciolo				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.572	0.077	7.467	4.69E-12
C. lumínica	0.141	0.081	1.732	0.085
C. hídrica	0.622	0.081	7.667	1.50E-12

PIN3-hipocotilo				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.820	0.093	8.794	2.25E-15
C. lumínica	0.286	0.121	2.356	0.020
C. hídrica	0.582	0.123	4.719	0.000
C. lumínica*C. hídrica	-0.443	0.163	-2.725	7.14E-03

Figura 9

AUX1-Apical

Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	1.406	0.097	14.464	7.77E-27
C. lumínica	-0.407	0.139	-2.932	4.13E-03

AUX1-Basal				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	1.083	0.110	9.888	9.16E-17
C. hídrica	0.284	0.131	2.174	3.19E-02
C. lumínica	-0.263	0.131	-2.010	4.70E-02

Figura 10

FLA9-1

Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.008	0.0007903	9.810	0.000
FLA9-1 (col=0=1)	0.009	0.0016	5.340	0.00E+00
C. hídrica*C. lumínica	0.004	0.00144	2.700	7.10E-03
C. hídrica*FLA9-1	0.009	0.0016	5.400	0.000
FLA9-1*C. lumínica	0.021	0.00155	13.740	0.00E+00

FLA9.2

Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.015	0.001321872	11.655	0.000
C. lumínica (sombra=1)	-0.010	0.0013155	-7.760	6.26E-14
C. hídrica*C. lumínica	0.027	0.001310287	20.659	2.55E-66
FLA9-2*C. lumínica	-0.003	0.001296359	-2.096	0.037
FLA9-2*C. lumínica*C. hídrica	-0.010	0.002232089	-4.518	8.09E-06

FLA3

Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.0086	0.0007839	10.990	<0.0001
C. lumínica (sombra=1)	0.014	0.0013	10.760	<0.0001
C. hídrica*C. lumínica	0.011	0.00183	5.930	<0.0001
FLA3*C. hídrica*C. lumínica	0.017	0.00201	8.680	<0.0001

Figura 11

A- pIAA19::LUC

0h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Intercepción	0.40376	0.02937	13.75	<0.0001
C. hídrica	0.14364	0.03972	3.62	0.0004
2h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Intercepción	0.5476	0.05454	10.04	<0.0001
C. lumínica	0.28361	0.10395	2.73	0.0068
C. hídrica* C. lumínica	0.61464	0.12021	5.11	<0.0001
4h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Intercepción	0.43602	0.10167	4.29	<0.0001
C. hídrica	0.31606	0.14113	2.24	0.0259
C. lumínica	0.64735	0.15308	4.23	<0.0001
C. hídrica* C. lumínica	0.49627	0.20995	2.36	0.0188
6h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Intercepción	0.425	0.11826	3.59	0.0004
C. hídrica	0.34273	0.16416	2.09	0.0377
C. lumínica	0.77974	0.17805	4.38	<0.0001
C. hídrica* C. lumínica	0.70786	0.24005	2.95	0.0034
8h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Intercepción	0.40816	0.1258	3.24	0.0013
C. hídrica	0.35791	0.17462	2.05	0.0413
C. lumínica	0.82638	0.1894	4.36	<0.0001
C. hídrica* C. lumínica	0.86293	0.25535	3.38	0.0008
10h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Intercepción	0.3948	0.11705	3.37	0.0008
C. hídrica	0.32697	0.16248	2.01	0.0451
C. lumínica	0.82242	0.17623	4.67	0
C. hídrica* C. lumínica	0.81009	0.2376	3.41	0.0007

B- pHFR1::LUC

0h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Intercepción	0.642	0.018	36.620	<0.0001
2h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Intercepción	0.799	0.035	22.9	<0.0001
C. lumínica	0.341	0.052	6.58	<0.0001
4h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Intercepción	0.818	0.039	20.930	<0.0001
C. lumínica	0.626	0.058	10.770	<0.0001
6h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Intercepción	0.832	0.040	20.930	<0.0001
C. lumínica	0.698	0.057	12.180	<0.0001
8h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Intercepción	0.806	0.037	21.940	<0.0001
C. lumínica	0.639	0.053	12.060	<0.0001
10h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Intercepción	0.699	0.036	19.22	<0.0001
C. lumínica	0.676	0.052	12.91	<0.0001

C- pPIL1::LUC

0h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Intercepción	0.395	0.019	21.080	<0.0001
2h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Intercepción	0.43108	0.1008	4.28	<0.0001
C. lumínica	0.63299	0.17613	3.59	0.0004
C. hídrica* C. lumínica	1.38631	0.20714	6.69	<0.0001
4h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Intercepción	0.3453	0.08623	4	<0.0001
C. lumínica	1.30549	0.1653	7.9	0
C. hídrica* C. lumínica	1.54921	0.20589	7.52	<0.0001
6h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Intercepción	0.31389	0.09862	3.18	0.0017
C. lumínica	1.16211	0.17338	6.7	<0.0001
C. hídrica* C. lumínica	1.39313	0.2026	6.88	<0.0001
8h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Intercepción	0.29278	0.10215	2.87	0.0046
C. lumínica	1.30631	0.17851	7.32	<0.0001
C. hídrica* C. lumínica	0.87167	0.20993	4.15	<0.0001
10h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Intercepción	0.29472	0.16673	1.77	0.0798
C. lumínica	1.61937	0.23782	6.81	<0.0001

Figura 12

PIF3					
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	
Intercepción	1.396	0.077	18.212	1.38E-37	
Shade	-0.878	0.141	-6.205	6.78E-09	
Shade * Drought	0.660	0.153	4.308	3.22E-05	

PIF4					
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	
Intercepción	1.152	0.106	10.903	9.18E-22	
C. hídrica	0.561	0.121	4.649	6.27E-06	
C. lumínica	-0.326	0.121	-2.705	7.46E-03	

PIF5					
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	
Intercepción	1.153	0.101	11.449	5.49E-24	
PEG	0.950	0.146	6.495	5.72E-10	
Shade	-0.322	0.153	-2.108	3.62E-02	
ShadexPEG	-0.450	0.214	-2.101	3.68E-02	

Figura 13

A- PIF4::LUC					
0h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	209.504	5.24586	9.94	<0.0001	
C. hídrica *	32.0475	10.742	2.98	<0.0001	
C.lumínica					
2h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	347.069	12.4379	27.9	<0.0001	
C. hídrica	40.9844	15.8522	2.59	0.01	
C. lumínica	-34.7775	16.9364	-2.05	0.0405	
C. hídrica *	104.187	22.6861	4.59	<0.0001	
C.lumínica					
4h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	510.675	17.186	29.71	<0.0001	
C. hídrica	152.53	18.9934	8.03	<0.0001	
C. lumínica	-161.805	18.9312	-8.55	<0.0001	
6h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	528.505	17.837	29.63	<0.0001	
C. hídrica	173.146	19.4455	8.9	<0.0001	
C. lumínica	-171.364	19.3225	-8.87	<0.0001	
8h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	526.47	17.0107	30.95	<0.0001	
C. hídrica	163.422	18.5447	8.81	<0.0001	
C. lumínica	-174.742	18.4274	-9.48	<0.0001	
10h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	538.762	18.3406	29.38	<0.0001	
C. hídrica	83.9913	23.3753	3.59	0.0004	
C. lumínica	-220.876	24.9741	-8.84	<0.0001	
C. hídrica *	68.3478	33.4525	2.04	0.0415	
C.lumínica					

B- PIF4::PIF4-LUC					
0h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	630.074	41.766	15.09	<0.0001	
C. hídrica	591.153	58.884	10.04	<0.0001	
2h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	4920.83	223.819	21.99	<0.0001	
C. hídrica	1216.3	394.925	3.08	0.0021	
C. hídrica *	1134.52	445.409	2.55	0.011	
C. lumínica					
4h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	5446.99	300.928	18.1	<0.0001	
C. hídrica	734.668	343.67	2.14	0.0328	
C. lumínica	1883.92	343.791	5.48	<0.0001	
6h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	3454.07	348.978	9.9	<0.0001	
C. hídrica	2230.32	492.262	4.53	<0.0001	
C. lumínica	5135.5	479.689	10.71	<0.0001	
C. hídrica *	-2779.18	675.659	-4.11	<0.0001	
C. lumínica					
8h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	2573.15	289.239	8.9	<0.0001	
C. lumínica	5429.91	402.872	13.48	<0.0001	
C. hídrica *	-1911.18	347.394	-5.5	<0.0001	
C. lumínica					
10h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	1849.76	236.023	7.84	<0.0001	
C. hídrica	2129.11	333.788	6.38	<0.0001	
C. lumínica	5199.06	324.077	16.04	<0.0001	
C. hídrica *	-3639.38	457.343	-7.96	<0.0001	
C. lumínica					

C- PIF4::LUC elf3				
0h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Constant	3961.7	308.739	12.83	<0.0001
C. hídrica *				
C. lumínica	4089.48	447.405	9.14	<0.0001
ELF3	-3752.2	336.803	-11.1	<0.0001
C. lumínica * ELF3	-4057.43	525.488	-7.72	<0.0001
2h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Constant	6238.06	441.942	14.12	<0.0001
C. hídrica *				
C. lumínica	5549.8	638.36	8.69	<0.0001
ELF3	-5884.38	482.031	-12.2	<0.0001
C. lumínica * ELF3	-5446.02	750.386	-7.26	<0.0001
4h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Constant	5909.26	444.405	13.3	<0.0001
C. hídrica *				
C. lumínica	5349.26	641.918	8.33	<0.0001
ELF3	-5380.39	486.007	-11.1	<0.0001
C. lumínica * ELF3	-5369.08	763.83	-7.03	<0.0001
6h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Constant	5676.26	407.28	13.94	<0.0001
C. hídrica	5022.97	590.205	8.51	<0.0001
ELF3	-5240.18	469.626	-11.2	<0.0001
C. hídrica * ELF3	-4830.06	667.604	-7.23	<0.0001
8h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Constant	5343.1	374.934	14.25	<0.0001
C. hídrica	4274.07	541.571	7.89	<0.0001
ELF3	-4910.88	432.327	-11.4	<0.0001
C. hídrica * ELF3	-4090.49	613.027	-6.67	<0.0001
10h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Constant	4821.89	346.907	13.9	<0.0001
C. hídrica	3838.22	501.088	7.66	<0.0001
ELF3	-4402.26	400.011	-11	<0.0001
C. hídrica * ELF3	-3699.77	567.203	-6.52	<0.0001

D- PIF4::PIF4-LUC elf3				
0h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Constant	5880.07	333.908	17.61	<0.0001
C. hídrica	3359.55	472.218	7.11	<0.0001
ELF3	-5250	371.915	-14.1	<0.0001
C. hídrica * ELF3	-2768.4	525.651	-5.27	<0.0001
2h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Constant	8597.2	565.842	15.19	<0.0001
C. hídrica	4678.91	800.222	5.85	<0.0001
ELF3	-3676.36	628.606	-5.85	<0.0001
C. hídrica * ELF3	-3462.61	934.752	-3.7	0.0002
C. hídrica * C. lumínica * ELF3	1134.52	544.879	2.08	0.0376
4h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Constant	9556.42	715.5	13.36	<0.0001
C. hídrica	4154.22	826.188	5.03	<0.0001
C. lumínica	-2183.47	826.188	-2.64	0.0084
ELF3	-4109.43	798.667	-5.15	<0.0001
C. lumínica * ELF3	4067.39	920.296	4.42	<0.0001
C. hídrica * ELF3	-3419.55	920.233	-3.72	0.0002
6h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Constant	8740.32	589.057	14.84	<0.0001
C. hídrica	2664.31	443.969	6	<0.0001
C. lumínica	-1620.06	771.635	-2.1	0.036
ELF3	-5504.35	609.403	-9.03	<0.0001
C. lumínica * ELF3	6973.67	922.266	7.56	<0.0001
C. hídrica * ELF3	-3213.17	676.428	-4.75	<0.0001
8h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Constant	6829.15	465.119	14.68	<0.0001
C. hídrica	2827.64	657.777	4.3	<0.0001
ELF3	-4157.88	564.392	-7.37	<0.0001
C. lumínica * ELF3	5272.19	428.975	12.29	<0.0001
C. hídrica * ELF3	-4647.37	754.628	-6.16	<0.0001
10h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Constant	6356.17	323.858	19.63	<0.0001
C. hídrica	2349.19	323.435	7.26	<0.0001
ELF3	-4616.46	343.655	-13.4	<0.0001
C. lumínica * ELF3	5309.1	366.695	14.48	<0.0001
C. hídrica * ELF3	-3859.46	491.734	-7.85	<0.0001

Figura 14

A)-ELF3::LUC					
0h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	1046.07	37.7723	27.69	<0.0001	
C. hídrica * C.luminica	123.008	52.6494	2.34	0.021	
2h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	746.504	25.7059	29.04	<0.0001	
C. hídrica	105.68	36.3536	2.91	0.0043	
4h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	589.873	18.3214	32.2	<0.0001	
C. hídrica * C.luminica	124.624	36.1155	3.45	0.0007	
6h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	605.76	16.7756	36.11	<0.0001	
C. hídrica * C.luminica	108.628	33.0684	3.28	0.0013	
8h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	770.095	40.8197	18.87	<0.0001	
C. hídrica	118.747	41.4246	2.87	0.0051	
C. luminica	-122.158	43.7277	-2.79	0.0062	
10h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	793.62	31.9657	24.83	<0.0001	
C. hídrica	117.153	44.9885	2.6	0.0106	

B)- ELF3::ELF3-LUC					
0h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	431.574	40.0409	10.78	<0.0001	
C. hídrica	343.236	48.4028	7.09	<0.0001	
C. luminica	96.1738	48.4624	1.98	0.049	
2h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	573.81	42.7649	13.42	<0.0001	
C. hídrica	398.218	62.3149	6.39	<0.0001	
4h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	440.02	30.7526	14.31	<0.0001	
C. hídrica	336.193	53.9436	6.23	<0.0001	
C. hídrica * C. luminica	-128.927	63.9692	-2.02	0.0456	
6h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	439.117	32.8825	13.35	<0.0001	
C. hídrica	350.93	47.2615	7.43	<0.0001	
8h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	577.319	46.1803	12.5	<0.0001	
C. hídrica	555.175	65.5232	8.47	<0.0001	
10h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	783.881	69.825	11.23	<0.0001	
C. hídrica	815.963	99.0718	8.24	<0.0001	

Figura 15

A-PIF4				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.0085	0.0003	25.830	<0.0001
C. luminica * pif4	-0.003	0.0006	-4.930	<0.0001
A-ELF3				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.005	0.0006	8.930	<0.0001
C. luminica	-0.002	0.0006	-3.100	0.002
ELF3	0.002	0.0005	3.920	0.0001
B-PIF4				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.771	0.0181	42.640	<0.0001
C. hídrica	-0.165	0.0200	-8.240	<0.0001
PIF4	-0.148	0.0194	-7.640	<0.0001
B-ELF3				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.398	0.0108	36.820	<0.0001
C. luminica	-0.043	0.0114	-3.780	<0.0001
C. hídrica	-0.124	0.0113	-10.950	<0.0001
ELF3	0.227	0.0111	20.540	<0.0001

Figura 16

A)- CCA1::LUC					
0h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	4104.72	363.092	11.3	<0.0001	
C. hídrica	2122.71	513.489	4.13	0.0001	
2h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	6666	597.911	11.15	<0.0001	
C. hídrica	3296.96	690.408	4.78	<0.0001	
C. luminica	-2465.82	690.408	-3.57	0.0006	
4h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	5703.84	378.811	15.06	<0.0001	
C. hídrica	2758.65	437.414	6.31	<0.0001	
C. luminica	-2370.3	437.414	-5.42	<0.0001	
6h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	4088.3	253.421	16.13	<0.0001	
C. hídrica	1779.19	292.625	6.08	<0.0001	
C. luminica	-1106.91	292.625	-3.78	0.0003	
8h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	3629.54	199.601	18.18	<0.0001	
C. hídrica	1231.29	230.479	5.34	<0.0001	
C. luminica	-1064.58	230.479	-4.62	<0.0001	
10h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	2413.92	131.809	18.31	<0.0001	
C. hídrica	810.556	186.405	4.35	<0.0001	

B)- LHY::LUC					
0h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	950.217	70.6693	13.45	<0.0001	
C. hídrica	284.937	98.8949	2.88	0.0049	
2h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	952.456	56.8706	16.75	<0.0001	
C. hídrica	587.96	97.1251	6.05	<0.0001	
C. hídrica* C. luminica	-528.325	111.346	-4.74	<0.0001	
4h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	711.348	36.0932	19.71	<0.0001	
C. hídrica	354.361	61.6408	5.75	<0.0001	
C. hídrica* C. luminica	-271.942	70.6665	-3.85	0.0002	
6h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	506.63	25.0297	20.24	<0.0001	
C. hídrica	271.745	42.7464	6.36	<0.0001	
C. hídrica* C. luminica	-142.517	49.0054	-2.91	0.0046	
8h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	413.674	21.1063	19.6	<0.0001	
C. hídrica	146.559	29.5362	4.96	<0.0001	
10h					
Resulting Stepwise Model					
Variable	Coefficient	Std Error	T	P	
Constant	324.412	20.3872	15.91	<0.0001	
C. hídrica	110.538	28.4286	3.89	0.0002	

Figura 17

355:HFR1-LUC				
0h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Constant	0.29591	0.01476	20.05	<0.0001
C. hídrica	0.05982	0.02079	2.88	0.0042
2h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Constant	1.14209	0.08015	14.25	<0.0001
C. hídrica	0.25931	0.09523	2.72	0.0068
C. lumínica	-0.24512	0.09547	-2.57	0.0107
4h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Constant	1.00153	0.0602	16.64	<0.0001
C. hídrica	0.35971	0.08488	4.24	<0.0001
6h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Constant	1.14448	0.06346	18.04	<0.0001
C. hídrica	0.41836	0.07369	5.68	<0.0001
C. lumínica	-0.31134	0.07369	-4.23	<0.0001
8h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Constant	1.07301	0.06388	16.8	<0.0001
C. hídrica	0.39799	0.07426	5.36	<0.0001
C. lumínica	-0.20266	0.07426	-2.73	0.0067
10h				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficient	Std Error	T	P
Constant	1.05179	0.05844	18	<0.0001
C. hídrica	0.2884	0.06806	4.24	<0.0001
C. lumínica	-0.4321	0.06806	-6.35	<0.0001

Figura 18

Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	64.651	6.234	10.372	2.84E-16
C. hídrica	-17.450	7.328	-2.381	1.97E-02
C. lumínica	-44.957	7.328	-6.135	3.42E-08

Figura 19

Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Constant	45.890	2.7007	16.992	<0.0001
C. lumínica	-37.969	3.8194	-9.941	<0.0001

Figura 20

PIF3				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.8757	0.049228279	17.788	2.84E-38
C. lumínica	0.736	0.07873662	9.348	1.50E-16
C. hídrica*C. lumínica	-0.805	0.089715719	-8.969	1.39E-15

PIF5				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.963	0.042	23.132	2.26E-60
C. hídrica	-0.205	0.072	-2.866	0.005
C. hídrica*C. lumínica	0.989	0.082	12.039	7.04E-26

Figura 21

Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.101	0.060	1.670	9.87E-02
C. lumínica	1.361	0.095	14.325	2.21E-24
C. lumínica * C. hídrica	0.374	0.103	3.633	4.78E-04

Figura 22

Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	17.718	1.514	11.704	1.66E-12
C. lumínica	-5.440	2.107	-2.582	1.52E-02

Figura 23

ARF6				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.005	0.001	3.790	2.00E-04
C. lumínica	0.006	0.002	2.690	7.50E-03
ARF6	0.006	0.002	3.290	1.10E-03
C. hídrica * C. lumínica	0.026	0.002	13.570	<0.0001
ARF6 * C. lumínica	0.012	0.003	4.350	<0.0001

ARF6 ARF8				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.005	0.001	3.790	2.00E-04
C. lumínica	0.006	0.002	2.690	7.50E-03
C. hídrica * C. lumínica	0.006	0.002	3.290	1.10E-03
ARF6 ARF8 * C. hídrica	0.026	0.002	13.570	<0.0001
ARF6ARF8 * C. hídrica	0.012	0.003	4.350	<0.0001

Figura 24

Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.974	0.0462	21.066	9.54E-31
C. lumínica	0.150	0.0816	1.843	6.99E-02
C. hídrica*C. lumínica	-0.201	0.0982	-2.051	4.43E-02

PIF4

Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.7866	0.061246367	12.844	9.27E-28
C. hídrica	0.144	0.084079806	1.714	0.088
C. lumínica	0.181	0.085279392	2.118	0.035
C. hídrica*C. lumínica	0.338	0.117937132	2.865	0.005

ARF6 ARF7

Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.010	0.001	8.180	<0.0001
C. hídrica * C. lumínica	0.040	0.004	8.870	<0.0001
ARF6 ARF7 * C. hídrica	0.018	0.003	7.000	<0.0001
ARF6ARF7 * C. hídrica * C. lumínica	-0.013	0.005	-2.350	0.0198

Figura 25

4h				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Constant	12.773	0.9289	13.750	<0.0001
C. lumínica	-3.863	1.3136	-2.940	0.008

16h				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Constant	22.139	1.2568	17.620	<0.0001
C. lumínica	-4.050	1.7587	-2.300	0.026

10h				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Constant	7.193	0.5556	12.950	0.000

Figura 26

Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	1.364	0.0732	18.630	7.36E-27
C. hídrica	-0.516	0.1218	-4.235	7.84E-05
C. hídrica*C. lumínica	-0.340	0.1376	-2.473	0.02

Figura 27

Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.008	0.002	4.670	<0.0001
C. hídrica	0.007	0.002	3.050	0.0026
C. lumínica	0.029	0.002	11.920	<0.0001
C. hídrica * RGA	0.019	0.003	5.780	<0.0001
RGA * C. hídrica * C. lumínica	0.037	0.005	7.800	<0.0001

Figura 28

bin2				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	2.66579	2.77031	0.96	3.37E-01
C. lumínica	9.82128	3.29344	2.98	0.0033
BIN2 * C. hídrica * C. lumínica	5.655	2.8161	2.010	4.64E-02

Figura 29

bin2				
Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.003	0.003	1.000	0.320
C. hídrica	0.006	0.002	2.430	0.017
C. lumínica	0.018	0.002	7.710	<0,0001
BIN2	0.009	0.002	3.560	0.0005
BIN2 * C. hídrica * C. lumínica	0.044	0.004	12.120	<0,0001

ami^{AK}

Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.011	0.002	5.350	<0,0001
PPK	-0.006	0.002	-2.810	0.0054
C. hídrica	0.005	0.002	2.450	0.0152
C. lumínica	0.020	0.003	6.690	<0,0001
C. hídrica * C. lumínica	0.043	0.004	11.610	<0,0001
PPK * C. lumínica	-0.013	0.004	-3.440	0.0007
PPK * C. hídrica * C. lumínica	-0.021	0.004	-4.910	<0,0001

ami^{AK}

Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	2.66579	3.1185	0.85	0.394
C. lumínica	12.3699	3.59614	3.44	0.0008
PPK (col=0=1)	73.159	6.05842	12.08	<0,0001
PPK * C. hídrica	-20.036	8.1850	-2.450	0.016

ppk1 ppk2 ppk3

Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.009	0.002	4.140	0.0001
C. hídrica	0.006	0.003	2.210	0.0293
C. lumínica	0.022	0.003	7.150	<0,0001
C. hídrica * C. lumínica	0.042	0.004	10.030	<0,0001
PPK * C. lumínica	-0.020	0.004	-4.730	<0,0001
PPK * C. hídrica * C. lumínica	-0.023	0.007	-3.100	2.40E-03

ppk1 ppk2 ppk4

Resulting Stepwise Model				
Variable	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad
Intercepción	0.010	0.002	5.900	<0,0001
PPK	-0.005	0.002	-2.680	0.0081
C. hídrica	0.007	0.002	3.430	0.0007
C. lumínica	0.020	0.002	8.240	<0,0001
C. hídrica * C. lumínica	0.042	0.003	13.120	<0,0001
PPK * C. lumínica	-0.015	0.003	-4.710	<0,0001
PPK * C. hídrica * C. lumínica	-0.031	0.004	-8.180	<0,0001

Figura S.1. Tasa de elongación del hipocotilo en función del largo inicial del hipocotilo.

Tasa de elongación del hipocotilo en función del largo inicial del hipocotilo (previo al tratamiento de sombra), para los genotipos *col-0*, *aba2*, *nced3*, *abi5* y *abi3*. A-Datos identificados por clase (Clase I, cotiledones abiertos, verdes y expandidos; Clase II, cotiledones a medio abrir; Clase III, cotiledones cerrados, gancho apical cerrado o a medio abrir). B- Se muestran los mismos datos que en A, pero identificados por tratamiento.

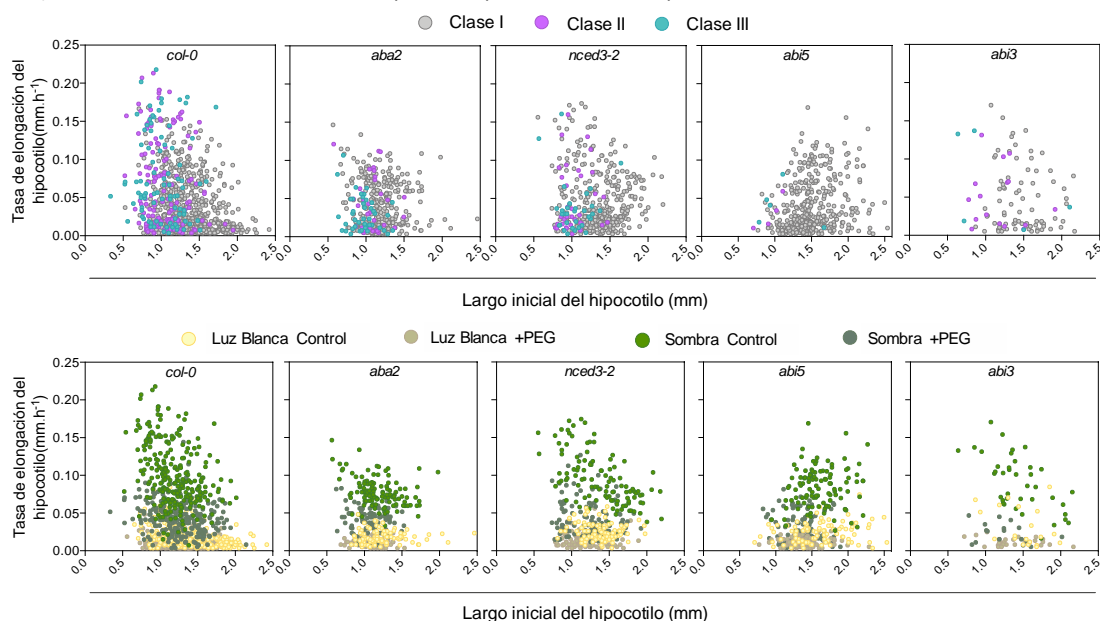


Tabla S1. Meta-Análisis.

Grupo	Locus ID	Annotation	T sombra simulada	T déficit hídrico
1	AT4G34770	auxin-responsive family protein (saur1)	0.035	0.044
1	AT3G58120	bZIP transcription factor family protein	0.001	0.006
1	AT1G50040	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT3G19680.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO61535.1); contains InterPro domain Protein of unknown function DUF1005 (InterPro:IPR010410)	0.007	0.010
1	AT1G03870	FLA9	0.017	0.023
1	AT1G22330	RNA binding	0.007	0.021
1	AT3G62820	invertase/pectin methylesterase inhibitor family protein	0.028	0.000
1	AT1G52190	proton-dependent oligopeptide transport (POT) family protein	0.030	0.003
1	AT2G42900	similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO70018.1); contains InterPro domain Plant Basic Secretory Protein (InterPro:IPR007541)	0.034	0.005
1	AT3G19680	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT1G50040.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO61535.1); contains InterPro domain Protein of unknown function DUF1005 (InterPro:IPR010410)	0.005	0.004
1	AT5G22940	exostosin family protein	0.026	0.020
1	AT5G18930	BUD2/SAMDC4 (BUSHY AND DWARF 2); adenosylmethionine decarboxylase	0.007	0.008
1	AT5G04190	PKS4 (PHYTOCHROME KINASE SUBSTRATE 4)	0.006	0.020
1	AT1G33240	AT-GTL1 (Arabidopsis thaliana GT2-like 1); transcription factor	0.044	0.010
1	AT5G15830	ATBZIP3 (ARABIDOPSIS THALIANA BASIC LEUCINE-ZIPPER 3); DNA binding / transcription factor	0.044	0.050
1	AT5G61570	protein kinase family protein	0.036	0.016
1	AT1G54740	similar to structural constituent of ribosome [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT1G22110.1); similar to unknown [Populus trichocarpa x Populus deltoides] (GB:ABK96485.1)	0.012	0.005
1	AT1G70940	PIN3 (PIN-FORMED 3); auxin:hydrogen symporter/ transporter	0.003	0.005
1	AT1G69160	unknown protein	0.041	0.002
1	AT1G78260	RNA recognition motif (RRM)-containing protein	0.019	0.041

1	AT5G54380	THE1 (THESEUS1); kinase/ protein kinase	0.029	0.043
1	AT3G06750	hydroxyproline-rich glycoprotein family protein	0.022	0.028
1	AT2G20670	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT4G32480.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO69754.1); contains InterPro domain Protein of unknown function DUF506, plant (InterPro:IPR006502)	0.046	0.024
1	AT1G69690	TCP family transcription factor, putative	0.042	0.003
1	AT1G11545	xyloglucan:xyloglucosyl transferase, putative / xyloglucan endotransglycosylase, putative / endo-xyloglucan transferase, putative	0.029	0.038
1	AT1G25230	purple acid phosphatase family protein	0.021	0.035
1	AT3G51910	AT-HSFA7A (Arabidopsis thaliana heat shock transcription factor A7A); DNA binding / transcription factor	0.006	0.028
1	AT3G13980	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT1G54200.1); similar to hypothetical protein [Vitis vinifera] (GB:CAN69469.1)	0.008	0.028
1	AT4G34560	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT5G66440.1); similar to hypothetical protein [Vitis vinifera] (GB:CAN77202.1)	0.016	0.018
1	AT1G75500	nodulin MtN21 family protein	0.017	0.020
1	AT5G58550	EOL2 (ETO1-LIKE 2); binding / protein binding	0.046	0.021
1	AT5G02840	LCL1 (LHY/CCA1-LIKE 1); DNA binding / transcription factor	0.046	0.002
1	AT1G61900	Identical to Uncharacterized GPI-anchored protein At1g61900 precursor [Arabidopsis thaliana] (GB:Q8GUI4;GB:O80696;GB:Q3ECK6); similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT2G30700.1); similar to Os07g0102300 [Oryza sativa (japonica cultivar-group)] (GB:NP_001058682.1)	0.021	0.024
1	AT1G64640	plastocyanin-like domain-containing protein	0.041	0.009
1	AT5G25460	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT5G11420.1); similar to unknown [Ricinus communis] (GB:CAB02653.1); contains InterPro domain Protein of unknown function DUF642 (InterPro:IPR006946)	0.020	0.025
1	AT3G29370	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT5G39240.1)	0.003	0.006
1	AT2G05790	glycosyl hydrolase family 17 protein	0.016	0.007
1	AT3G50750	brassinosteroid signalling positive regulator-related	0.010	0.013
1	AT1G80280	hydrolase, alpha/beta fold family protein	0.005	0.023
1	AT1G61740	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT1G11540.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO38814.1); contains InterPro domain Protein of unknown function DUF81; (InterPro:IPR002781)	0.027	0.009
1	AT1G76090	SMT3 (S-adenosyl-methionine-sterol-C-methyltransferase 3); S-adenosylmethionine-dependent methyltransferase	0.014	0.006
1	AT1G67050	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT5G38320.1); similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT5G38320.2); similar to At1g67050-like protein [Arabidopsis lyrata subsp. petraea] (GB:ABY59212.1)	0.008	0.042
1	AT4G39400	BRI1 (BRASSINOSTEROID INSENSITIVE 1); kinase	0.000	0.010
1	AT4G10150; AT4G10160	[AT4G10150, zinc finger (C3HC4-type RING finger) family protein];[AT4G10160, zinc finger (C3HC4-type RING finger) family protein]	0.010	0.050
1	AT2G42870	HLH1/PAR1 (PHY RAPIDLY REGULATED 1); transcription regulator	0.001	0.047
1	AT5G04770	ATCAT6/CAT6 (CATIONIC AMINO ACID TRANSPORTER 6); amino acid transmembrane transporter/ basic amino acid transmembrane transporter/ cationic amino acid transmembrane transporter	0.013	0.031
1	AT1G14920	GAI (GA INSENSITIVE); transcription factor	0.002	0.044
1	AT2G39570	ACT domain-containing protein	0.031	0.010
1	AT4G04630	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT4G21970.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO17943.1); contains InterPro domain Protein of unknown function DUF584 (InterPro:IPR007608)	0.042	0.010
1	AT2G38120	AUX1 (AUXIN RESISTANT 1); amino acid transmembrane transporter/ transporter	0.000	0.014
1	AT2G39870	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT3G55690.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO69095.1)	0.023	0.003
1	AT2G46780	RNA recognition motif (RRM)-containing protein	0.015	0.028
1	AT5G19530	ACL5 (ACALIS 5)	0.018	0.011
1	AT1G68560	ATXYL1/XYL1 (ALPHA-XYLOSIDASE 1); alpha-N-arabinofuranosidase/ hydrolase, hydrolyzing O-glycosyl compounds / xylan 1,4-beta-xylosidase	0.000	0.042

1	AT1G21050	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT1G76610.1); similar to hypothetical protein [Vitis vinifera] (GB:CAN67637.1); contains InterPro domain Protein of unknown function DUF617, plant (InterPro:IPR006460)	0.000	0.007
1	AT3G23750	leucine-rich repeat family protein / protein kinase family protein	0.014	0.018
1	AT3G13520	AGP12 (ARABINO GALACTAN PROTEIN 12)	0.014	0.045
1	AT5G42750	BKI1 (BRI1 KINASE INHIBITOR 1); protein heterodimerization	0.037	0.027
1	AT5G24410	glucosamine/galactosamine-6-phosphate isomerase-related	0.014	0.030
1	AT1G21830	similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO61865.1)	0.029	0.036
1	AT2G15680	calmodulin-related protein, putative	0.021	0.019
1	AT4G03190	GRH1 (GRR1-LIKE PROTEIN 1); ubiquitin-protein ligase	0.000	0.005
1	AT4G22190	similar to unknown [Populus trichocarpa] (GB:ABK94177.1)	0.037	0.005
1	AT5G16480	tyrosine specific protein phosphatase family protein	0.027	0.023
1	AT5G19090	heavy-metal-associated domain-containing protein	0.024	0.021
1	AT2G33360	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT1G04490.1); similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT1G04490.2); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO71465.1)	0.032	0.022
1	AT5G66590	allergen V5/Tpx-1-related family protein	0.004	0.043
2	AT3G07700	ABC1 family protein	0.031	0.029
2	AT5G46210	CUL4 (CULLIN4); protein binding / ubiquitin-protein ligase	0.025	0.035
2	AT1G07510	FTSH10 (FtsH protease 10); ATPase	0.017	0.020
2	AT1G71780	similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO67543.1)	0.020	0.049
2	AT3G18370	ATSYTF/NTMC2T3/NTMC2TYPE3/SYTF	0.043	0.004
2	AT4G34240	ALDH3I1 (Aldehyde dehydrogenase 3I1); 3-chloroallyl aldehyde dehydrogenase/ aldehyde dehydrogenase (NAD)	0.030	0.048
2	AT2G26510	PDE135 (PIGMENT DEFECTIVE EMBRYO 135); transmembrane transporter	0.024	0.050
2	AT5G10070	RNase L inhibitor protein-related	0.004	0.025
2	AT4G12750	sequence-specific DNA binding / transcription factor	0.014	0.026
2	AT4G21470	ATFMN/FHY (RIBOFLAVIN KINASE/FMN HYDROLASE); FMN adenyltransferase/ riboflavin kinase	0.022	0.020
2	AT5G65860	ankyrin repeat family protein	0.003	0.038
2	AT2G30860	ATGSTF9 (Arabidopsis thaliana Glutathione S-transferase (class phi) 9); glutathione transferase	0.032	0.017
2	AT3G01510	5'-AMP-activated protein kinase beta-1 subunit-related	0.035	0.040
2	AT5G15740	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT3G02250.1); similar to hypothetical protein [Cleome spinosa] (GB:ABD96934.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO49221.1); similar to hypothetical protein [Cleome spinosa] (GB:ABD96844.1)	0.010	0.000
2	AT4G27820	glycosyl hydrolase family 1 protein	0.002	0.015
2	AT4G34050	caffeoyl-CoA 3-O-methyltransferase, putative	0.030	0.003
2	AT4G18130	PHYE (PHYTOCHROME DEFECTIVE E); G-protein coupled photoreceptor/ signal transducer	0.048	0.032
2	AT5G62630	HIPL2 (HIPL2 PROTEIN PRECURSOR); catalytic	0.002	0.047
2	AT3G12200	ATNEK7 (NIMA-RELATED KINASE7); kinase	0.022	0.047
2	AT1G71840	transducin family protein / WD-40 repeat family protein	0.030	0.031
2	AT2G15760	calmodulin-binding protein	0.010	0.033
2	AT1G36160	ACC1 (ACETYL-COENZYME A CARBOXYLASE 1); acetyl-CoA carboxylase	0.010	0.010
2	AT5G40380	protein kinase family protein	0.017	0.030
2	AT1G15470	transducin family protein / WD-40 repeat family protein	0.009	0.024
2	AT2G43800	formin homology 2 domain-containing protein / FH2 domain-containing protein	0.003	0.040
2	AT3G06940	transposable element gene	0.049	0.004
2	AT5G54160	ATOMT1 (O-METHYLTRANSFERASE 1)	0.004	0.028
2	AT1G78060	glycosyl hydrolase family 3 protein	0.022	0.040
2	AT1G22410	2-dehydro-3-deoxyphosphoheptonate aldolase, putative / 3-deoxy-D-arabino-heptulosonate 7-phosphate synthase, putative / DAHP synthetase,	0.009	0.010

		putative		
2	AT3G50910	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT5G66480.1); similar to hypothetical protein [Thellungiella halophila] (GB:ABB45854.1)	0.045	0.023
2	AT5G05200	ABC1 family protein	0.013	0.041
2	AT4G17330	ATG2484-1 (Arabidopsis thaliana G2484-1 protein); RNA binding	0.032	0.046
2	AT3G12670	EMB2742 (EMBRYO DEFECTIVE 2742); CTP synthase	0.006	0.002
2	AT2G15390	FUT4 (fucosyltransferase 4); fucosyltransferase/ transferase, transferring glycosyl groups	0.026	0.033
2	AT4G19460	glycosyl transferase family 1 protein	0.028	0.001
2	AT3G06035	Identical to Uncharacterized GPI-anchored protein At3g06035 precursor [Arabidopsis Thaliana] (GB:Q84MC0;GB:Q8H7F7;GB:Q8L9J0); similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT5G19250.1); similar to unknown [Populus trichocarpa] (GB:ABK94712.1)	0.000	0.026
2	AT1G78570	RHM1/ROL1 (RHAMNOSE BIOSYNTHESIS1); UDP-L-rhamnose synthase/ UDP-glucose 4,6-dehydratase/ catalytic	0.031	0.046
2	AT5G62440	Encodes a protein DOMINO1 that belongs to a plant-specific gene family sharing a common motif present in the tomato DEFECTIVE CHLOROPLASTS AND LEAVES (LeDCL) protein.	0.048	0.008
2	AT5G57990	UBP23 (UBIQUITIN-SPECIFIC PROTEASE 23); ubiquitin-specific protease	0.010	0.011
2	AT4G20910	HEN1 (HUA ENHANCER 1)	0.027	0.019
2	AT3G60690	auxin-responsive family protein	0.000	0.042
2	AT5G44110	POP1	0.000	0.036
2	AT5G38530	tryptophan synthase-related	0.000	0.047
2	AT5G64730	transducin family protein / WD-40 repeat family protein	0.001	0.044
2	AT2G17760	aspartyl protease family protein	0.047	0.034
2	AT5G62620	galactosyltransferase family protein	0.037	0.000
2	AT1G72900	disease resistance protein (TIR-NBS class), putative	0.014	0.044
2	AT2G42200	squamosa promoter-binding protein-like 9 (SPL9)	0.021	0.017
2	AT1G75020	LPAT4; acyltransferase	0.016	0.050
2	AT5G05730	ASA1 (ANTHRANILATE SYNTHASE ALPHA SUBUNIT 1); anthranilate synthase	0.040	0.047
2	AT1G70730	phosphoglucomutase, cytoplasmic, putative / glucose phosphomutase, putative	0.013	0.033
2	AT5G15450	APG6/CLPB-P/CLPB3 (ALBINO AND PALE GREEN 6); ATP binding / ATPase	0.012	0.026
2	AT3G47570	leucine-rich repeat transmembrane protein kinase, putative	0.029	0.037
2	AT3G13330	binding	0.016	0.020
2	AT5G11060	KNAT4 (KNOTTED1-LIKE HOMEBOX GENE 4); transcription factor	0.000	0.035
2	AT5G36160	aminotransferase-related	0.008	0.026
2	AT5G03630	ATMDAR2; monodehydroascorbate reductase (NADH)	0.002	0.007
2	AT4G23260	protein kinase	0.029	0.011
2	AT2G39220	PLA IIB/PLP6 (Patatin-like protein 6); nutrient reservoir	0.002	0.031
2	AT2G17220	protein kinase, putative	0.008	0.018
2	AT3G47060	FTSH7 (FtsH protease 7); ATP-dependent peptidase/ ATPase/ metallopeptidase	0.004	0.037
2	AT3G55410	2-oxoglutarate dehydrogenase E1 component, putative / oxoglutarate decarboxylase, putative / alpha-ketoglutaric dehydrogenase, putative	0.039	0.049
2	AT5G01840	ATOF1/OF1 (ARABIDOPSIS THALIANA OVATE FAMILY PROTEIN 1); protein binding / transcription repressor	0.017	0.008
2	no_match	no_match	0.042	0.005
2	AT4G22970	AESP (ARABIDOPSIS HOMOLOG OF SEPARASE); peptidase	0.021	0.035
2	AT4G29690	type I phosphodiesterase/nucleotide pyrophosphatase family protein	0.011	0.016
2	AT5G24160	squalene monooxygenase 1,2 / squalene epoxidase 1,2 (SQP1,2)	0.030	0.026
2	AT5G61290	flavin-containing monooxygenase family protein / FMO family protein	0.010	0.004
2	AT2G38670	PECT1 (PHOSPHORYLETHANOLAMINE CYTIDYLTRANSFERASE 1); ethanolamine-phosphate cytidyltransferase	0.019	0.024
2	AT4G37470	hydrolase, alpha/beta fold family protein	0.000	0.046

2	AT1G63010	SPX (SYG1/Pho81/XPR1) domain-containing protein	0.005	0.028
2	AT1G18360	hydrolase, alpha/beta fold family protein	0.009	0.033
2	AT3G54390	transcription factor	0.005	0.010
2	AT5G37550	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT1G66190.1); similar to hypothetical protein [Vitis vinifera] (GB:CAN75247.1)	0.001	0.019
2	AT4G18220; AT4G18210	[AT4G18220, purine permease family protein];[AT4G18210, ATPUP10 (Arabidopsis thaliana purine permease 10); purine transmembrane transporter]	0.000	0.013
2	AT4G09900	hydrolase, alpha/beta fold family protein	0.001	0.046
2	AT2G19860	ATHXK2 (HEXOKINASE 2); ATP binding / hexokinase	0.002	0.014
2	AT4G30740; AT4G30710	[AT4G30740, similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT4G30710.1); similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT4G30710.2); similar to hypothetical protein [Vitis vinifera] (GB:CAN67151.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO66643.1)];	0.017	0.041
2	AT1G27930	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT1G67330.1); similar to unknown [Populus trichocarpa] (GB:ABK93495.1); contains InterPro domain Protein of unknown function DUF579, plant (InterPro:IPR006514)	0.010	0.043
2	AT3G21750	UDP-glucuronosyl/UDP-glucosyl transferase family protein	0.009	0.044
2	AT4G09570	CPK4 (calcium-dependent protein kinase 4); calmodulin-dependent protein kinase/ kinase	0.025	0.036
2	AT2G40840	DPE2 (DISPROPORTIONATING ENZYME 2); 4-alpha-glucanotransferase/heteroglycan binding	0.026	0.015
2	AT3G54420	ATEP3 (Arabidopsis thaliana chitinase class IV); chitinase	0.015	0.042
2	AT2G20110	tesmin/TSO1-like CXC domain-containing protein	0.002	0.016
2	AT3G21230	4CL5 (4-COUMARATE:COA LIGASE 5); 4-coumarate-CoA ligase	0.009	0.012
2	AT4G24130	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT1G56580.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO62919.1); contains InterPro domain Protein of unknown function DUF538 (InterPro:IPR007493)	0.036	0.024
2	AT5G64660	U-box domain-containing protein	0.013	0.018
2	AT2G33060; AT2G33050	[AT2G33060, leucine-rich repeat family protein];[AT2G33050, leucine-rich repeat family protein]	0.048	0.044
2	AT2G47550	pectinesterase family protein	0.019	0.042
2	AT5G39670	calcium-binding EF hand family protein	0.043	0.016
2	AT3G47960	proton-dependent oligopeptide transport (POT) family protein	0.002	0.010
2	AT1G34260	phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase family protein	0.002	0.030
2	AT4G39980	DHS1 (3-DEOXY-D-ARABINO-HEPTULOSONATE 7-PHOSPHATE SYNTHASE 1); 3-deoxy-7-phosphoheptulonate synthase	0.000	0.023
2	AT1G64710	alcohol dehydrogenase, putative	0.000	0.044
2	AT1G60270	pseudogene, glycosyl hydrolase family 1, contains Pfam PF00232 : Glycosyl hydrolase family 1 domain; TIGRFAM TIGR01233: 6-phospho-beta-galactosidase; similar to hydroxyisourate hydrolase (GI:19569603) (Glycine max)	0.002	0.039
2	AT3G15650	phospholipase/carboxylesterase family protein	0.014	0.006
2	AT1G27760	interferon-related developmental regulator family protein / IFRD protein family	0.002	0.034
2	AT1G79460	GA2 (GA REQUIRING 2); ent-kaurene synthase	0.040	0.019
2	AT5G22630	ADT5 (AROGENATE DEHYDRATASE 5); arogenate dehydratase/ prephenate dehydratase	0.008	0.035
2	AT4G36830	GNS1/SUR4 membrane family protein	0.005	0.038
2	AT1G68470	exostosin family protein	0.007	0.017
2	AT3G09540	pectate lyase family protein	0.005	0.025
2	AT5G55530	C2 domain-containing protein	0.019	0.039
2	AT4G33700	CBS domain-containing protein	0.005	0.041
2	AT2G38010	ceramidase family protein	0.005	0.037
2	AT2G23910	cinnamoyl-CoA reductase-related	0.001	0.018
2	AT4G02410	lectin protein kinase family protein	0.021	0.015
2	AT2G40435	transcription regulator	0.021	0.043

2	AT3G22370	AOX1A (alternative oxidase 1A); alternative oxidase	0.044	0.049
2	AT3G46970	ATPHS2/PHS2 (ALPHA-GLUCAN PHOSPHORYLASE 2); phosphorylase/ transferase, transferring glycosyl groups	0.007	0.043
2	AT3G05830	Encodes alpha-helical IF (intermediate filament)-like protein.	0.042	0.033
2	AT4G26200	ACS7 (1-Amino-cyclopropane-1-carboxylate synthase 7); 1- aminocyclopropane-1-carboxylate synthase	0.035	0.027
2	AT4G27830	glycosyl hydrolase family 1 protein	0.005	0.039
2	AT1G01520	myb family transcription factor	0.009	0.013
2	AT2G38870	protease inhibitor, putative	0.026	0.022
2	AT3G57010	strictosidine synthase family protein	0.039	0.040
2	AT3G09520	ATEX070H4 (exocyst subunit EXO70 family protein H4); protein binding	0.008	0.044
2	AT1G69870	proton-dependent oligopeptide transport (POT) family protein	0.014	0.047
2	AT3G25870	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT1G13360.1); similar to unknown [Populus trichocarpa] (GB:ABK92948.1)	0.050	0.044
2	AT5G14700	cinnamoyl-CoA reductase-related	0.020	0.041
2	AT4G33905	peroxisomal membrane protein 22 kDa, putative	0.033	0.039
3	AT4G19820	glycosyl hydrolase family 18 protein	0.033	0.006
3	AT4G38420	SKS9 (SKU5 Similar 9); copper ion binding / oxidoreductase	0.012	0.004
3	AT2G32100	ATOFP16/OFP16 (Arabidopsis thaliana ovate family protein 16)	0.006	0.001
3	AT3G02380	COL2 (CONSTANS-LIKE 2); transcription factor/ zinc ion binding	0.001	0.011
3	AT3G04290	ATLTL1/LTL1 (LI-TOLERANT LIPASE 1); carboxylesterase	0.025	0.016
3	AT4G37800	xyloglucan:xyloglucosyl transferase, putative / xyloglucan endotransglycosylase, putative / endo-xyloglucan transferase, putative	0.030	0.010
3	AT5G55620	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT3G09950.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO39940.1)	0.001	0.016
3	AT1G22690	gibberellin-responsive protein, putative	0.011	0.023
3	AT1G26220	GCN5-related N-acetyltransferase (GNAT) family protein	0.034	0.008
3	AT3G49670	BAM2 (big apical meristem 2); ATP binding / protein serine/threonine kinase	0.006	0.008
3	AT1G69530	ATEXPA1 (ARABIDOPSIS THALIANA EXPANSIN A1)	0.025	0.008
3	AT5G46790	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT4G17870.1); similar to Streptomyces cyclase/dehydrase family protein [Brassica oleracea] (GB:ABD65631.1); contains InterPro domain Streptomyces cyclase/dehydrase (InterPro:IPR005031)	0.015	0.006
3	AT5G64850	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT5G09960.1); similar to 80C09_15 [Brassica rapa subsp. pekinensis] (GB:AAZ41826.1)	0.005	0.016
3	AT4G18290	KAT2 (K+ ATPase 2); cyclic nucleotide binding / inward rectifier potassium channel	0.001	0.031
3	AT3G01550	triose phosphate/phosphate translocator, putative	0.013	0.046
3	AT3G28040	leucine-rich repeat transmembrane protein kinase, putative	0.015	0.046
3	AT3G26570	PHT2;1 (phosphate transporter 2;1)	0.017	0.016
3	AT1G53230	TCP3 (TEOSINTE BRANCHED1, CYCLOIDEA AND PCF TRANSCRIPTION FACTOR 3); transcription factor	0.007	0.017
3	AT1G14345	oxidoreductase	0.008	0.029
3	AT3G11090	LBD21 (LOB DOMAIN-CONTAINING PROTEIN 21)	0.044	0.016
3	AT3G15030	TCP4 (TCP FAMILY TRANSCRIPTION FACTOR 4); transcription factor	0.002	0.034
3	AT1G23205	invertase/pectin methylesterase inhibitor family protein	0.009	0.041
3	AT5G53500	WD-40 repeat family protein	0.030	0.031
3	AT3G55330	PPL1 (PSBP-LIKE PROTEIN 1); calcium ion binding	0.049	0.010
3	AT1G75690	chaperone protein dnaJ-related	0.026	0.007
3	AT3G19480	D-3-phosphoglycerate dehydrogenase, putative / 3-PGDH, putative	0.030	0.028
3	AT5G65410	ATHB25/ZFHD2 (ZINC FINGER HOMEODOMAIN 2); transcription factor	0.005	0.010
3	AT5G66770	scarecrow transcription factor family protein	0.018	0.003
3	AT4G38660	thaumatin, putative	0.033	0.013
3	AT1G11850	unknown protein	0.006	0.016

3	AT4G24930	thylakoid lumenal 17.9 kDa protein, chloroplast	0.017	0.009
3	AT5G17670	hydrolase, acting on ester bonds	0.049	0.005
3	AT1G01080	33 kDa ribonucleoprotein, chloroplast, putative / RNA-binding protein cp33, putative	0.048	0.007
3	AT3G23410	alcohol oxidase-related	0.000	0.028
3	AT1G44000	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT4G11911.1); similar to hypothetical protein [Vitis vinifera] (GB:CAN81476.1)	0.025	0.045
3	AT3G29030	ATEXPA5 (ARABIDOPSIS THALIANA EXPANSIN A5)	0.022	0.036
3	AT1G07180	ATNDI1/NDA1 (ALTERNATIVE NAD(P)H DEHYDROGENASE 1); NADH dehydrogenase	0.007	0.012
3	AT4G00955	similar to protein kinase family protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT2G23450.2); similar to protein kinase family protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT2G23450.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO41616.1); contains InterPro domain EGF (InterPro:IPR006210)	0.043	0.020
3	AT1G68780	leucine-rich repeat family protein	0.002	0.014
3	AT5G27290	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT1G54680.1); similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT1G54680.2); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO68604.1)	0.035	0.017
3	AT3G04790	ribose 5-phosphate isomerase-related	0.035	0.024
3	AT1G21500	similar to hypothetical protein OsI_030994 [Oryza sativa (indica cultivar-group)] (GB:EAZ09762.1); similar to Os09g0517000 [Oryza sativa (japonica cultivar-group)] (GB:NP_001063677.1); similar to unknown protein [Oryza sativa (japonica cultivar-group)] (GB:BAD33829.1)	0.036	0.014
3	AT2G02020	proton-dependent oligopeptide transport (POT) family protein	0.013	0.043
3	AT1G74070	peptidyl-prolyl cis-trans isomerase cyclophilin-type family protein	0.011	0.015
3	AT4G39710	immunophilin, putative / FKBP-type peptidyl-prolyl cis-trans isomerase, putative	0.044	0.041
3	AT2G18910	hydroxyproline-rich glycoprotein family protein	0.016	0.003
3	AT1G32080	membrane protein, putative	0.032	0.037
3	AT3G04310	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT2G33250.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO38748.1)	0.046	0.039
3	AT3G58990	aconitase C-terminal domain-containing protein	0.038	0.024
3	AT1G07450	tropinone reductase, putative / tropine dehydrogenase, putative	0.006	0.042
3	AT1G74730	similar to unknown [Populus trichocarpa x Populus deltoides] (GB:ABK96654.1); contains InterPro domain Protein of unknown function DUF1118 (InterPro:IPR009500)	0.020	0.009
3	AT4G28660	PSB28 (PHOTOSYSTEM II REACTION CENTER PSB28 PROTEIN)	0.031	0.040
3	AT5G16240	acyl-(acyl-carrier-protein) desaturase, putative / stearoyl-ACP desaturase, putative	0.041	0.008
3	AT2G23670	YCF37 (Arabidopsis homolog of Synechocystis YCF37)	0.004	0.017
3	AT4G02420	lectin protein kinase, putative	0.001	0.047
3	AT5G04230	PAL3 (PHENYL ALANINE AMMONIA-LYASE 3); phenylalanine ammonia-lyase	0.011	0.022
3	AT1G65295	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT5G01015.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO22991.1)	0.012	0.014
3	AT2G17300	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT4G35320.1)	0.040	0.023
3	AT5G03555	permease, cytosine/purines, uracil, thiamine, allantoin family protein	0.005	0.020
3	AT1G18060	similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO68142.1)	0.003	0.020
3	AT1G60990	aminomethyltransferase	0.046	0.012
3	AT1G25510	aspartyl protease family protein	0.017	0.004
3	AT2G46450	ATCNGC12 (cyclic nucleotide gated channel 12); cyclic nucleotide binding / ion channel	0.001	0.047
3	AT1G22590	AGL87; transcription factor	0.020	0.011
3	AT1G15000	SCPL50 (serine carboxypeptidase-like 50); serine carboxypeptidase	0.035	0.011
3	AT3G63140	mRNA-binding protein, putative	0.030	0.038
3	AT2G01590	similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO42320.1)	0.043	0.016
3	AT2G04795	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT5G35732.1);	0.001	0.012

		similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO24128.1)		
3	AT1G09340	CRB; binding / catalytic/ coenzyme binding	0.014	0.041
3	AT2G44210	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT1G55360.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO67164.1); contains InterPro domain Protein of unknown function DUF239, plant (InterPro:IPR004314)	0.021	0.033
3	AT2G29260	tropinone reductase, putative / tropine dehydrogenase, putative	0.045	0.027
3	AT5G09462; AT5G09460; AT5G09463; AT5G09461	[AT5G09462, CPuORF42 (Conserved peptide upstream open reading frame 42)];[AT5G09460, transcription factor/ transcription regulator];[AT5G09463, CPuORF41 (Conserved peptide upstream open reading frame 41)];[AT5G09461, CPuORF43 (Conserved peptide upstream open reading frame 43)]	0.003	0.035
3	AT2G17033	pentatricopeptide (PPR) repeat-containing protein	0.036	0.014
3	AT1G62250	similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO21221.1)	0.002	0.022
3	AT4G18480	CHL11 (CHLORINA 42); magnesium chelatase	0.043	0.020
3	AT3G63200	PLA IIIB/PLP9 (Patatin-like protein 9); nutrient reservoir	0.003	0.037
3	AT1G74900	OTP43 (ORGANELLE TRANSCRIPT PROCESSING DEFECT 43)	0.035	0.037
3	AT5G51545	LPA2 (LOW PSII ACCUMULATION2)	0.010	0.018
3	AT3G18890	binding / catalytic/ coenzyme binding	0.042	0.048
3	AT5G65010	ASN2 (ASPARAGINE SYNTHETASE 2); asparagine synthase (glutamine-hydrolyzing)	0.012	0.028
3	AT2G45160	scarecrow transcription factor family protein	0.002	0.018
3	AT1G60000	29 kDa ribonucleoprotein, chloroplast, putative / RNA-binding protein cp29, putative	0.003	0.036
3	AT1G16720	HCF173 (HIGH CHLOROPHYLL FLUORESCENCE PHENOTYPE 173); binding / catalytic/ oxidoreductase/ transcription repressor	0.039	0.029
3	AT3G48740	nodulin MtN3 family protein	0.022	0.028
3	AT3G54220	SCR (SCARECROW); transcription factor	0.002	0.023
3	AT5G18460	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT1G23340.1); similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT1G23340.2); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO38766.1); contains InterPro domain Protein of unknown function DUF239, plant (InterPro:IPR004314)	0.005	0.003
3	AT3G50685	similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO22868.1)	0.034	0.011
3	AT5G38520	hydrolase, alpha/beta fold family protein	0.015	0.024
3	AT2G43360	BIO2 (BIOTIN AUXOTROPH 2); biotin synthase	0.029	0.008
3	AT2G34490	CYP710A2 (cytochrome P450, family 710, subfamily A, polypeptide 2); C-22 sterol desaturase/ oxygen binding	0.011	0.023
3	AT5G17870	PSRP6 (PLASTID-SPECIFIC 50S RIBOSOMAL PROTEIN 6)	0.013	0.008
3	AT1G15980	similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO49411.1); contains domain G3DSA:3.40.50.2000 (G3DSA:3.40.50.2000); contains domain SSF53756 (SSF53756)	0.045	0.026
3	AT1G57770	amine oxidase family	0.002	0.013
3	AT3G10525	similar to SIM (SIAMESE) [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT5G04470.1)	0.032	0.031
3	AT2G26080	ATGLDP2 (ARABIDOPSIS THALIANA GLYCINE DECARBOXYLASE P-PROTEIN 2); glycine dehydrogenase (decarboxylating)	0.003	0.044
3	AT4G12030	bile acid:sodium symporter family protein	0.039	0.036
3	AT1G10850	ATP binding / protein serine/threonine kinase	0.038	0.017
3	AT1G45474	LHCA5 (Photosystem I light harvesting complex gene 5)	0.026	0.011
3	AT3G13900	haloacid dehalogenase-like hydrolase family protein	0.042	0.045
3	AT1G78180	binding	0.004	0.012
3	AT4G28025	similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO66511.1); contains domain Chlorophyll a-b binding protein (SSF103511)	0.006	0.012
3	AT3G15190	chloroplast 30S ribosomal protein S20, putative	0.031	0.022
3	AT1G78020	senescence-associated protein-related	0.003	0.036
3	AT5G65700	BAM1 (big apical meristem 1); ATP binding / kinase/ protein serine/threonine kinase	0.000	0.020
3	AT1G42970	GAPB (GLYCERALDEHYDE-3-PHOSPHATE DEHYDROGENASE B SUBUNIT); glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	0.026	0.020

3	AT4G15630	integral membrane family protein	0.025	0.033
3	AT4G31330	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT5G10580.1); similar to hypothetical protein [Vitis vinifera] (GB:CAN79714.1); contains InterPro domain Protein of unknown function DUF599 (InterPro:IPR006747)	0.021	0.050
3	AT1G34245	similar to EPF1 (EPIDERMAL PATTERNING FACTOR 1) [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT2G20875.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO64636.1); contains domain PROKAR_LIPOPROTEIN (PS51257)	0.041	0.006
3	AT2G33180	similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO41107.1)	0.008	0.024
3	AT5G08650	GTP-binding protein LepA, putative	0.012	0.022
3	AT4G35250	vestitone reductase-related	0.009	0.011
3	AT5G12860	DIT1 (DICARBOXYLATE TRANSPORTER 1); oxoglutarate:malate antiporter	0.008	0.023
3	AT5G11590	TINY2 (TINY2); DNA binding / transcription factor	0.001	0.036
3	AT5G20935	similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO67410.1)	0.014	0.029
3	AT5G01090	legume lectin family protein	0.001	0.008
3	AT1G60800	NIK3 (NSP-INTERACTING KINASE 3); kinase	0.018	0.010
3	AT3G26060	ATPRX Q; antioxidant/ peroxiredoxin	0.044	0.047
3	AT2G21370	xylulose kinase, putative	0.019	0.012
3	AT3G13690	protein kinase family protein	0.046	0.016
3	AT4G35090	CAT2 (CATALASE 2); catalase	0.024	0.007
3	AT3G10050	OMR1 (L-O-METHYLTHREONINE RESISTANT 1); L-threonine ammonia-lyase	0.009	0.033
3	AT2G20725	CAAX amino terminal protease family protein	0.033	0.002
3	AT4G38770	PRP4 (PROLINE-RICH PROTEIN 4)	0.036	0.048
3	AT1G70550	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT1G23340.1); similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT1G10750.1); similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT1G23340.2); contains InterPro domain Protein of unknown function DUF239, plant (InterPro:IPR004314)	0.042	0.036
3	AT5G42240	SCPL42 (serine carboxypeptidase-like 42); serine carboxypeptidase	0.047	0.031
3	AT3G01860	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT3G27210.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO14583.1)	0.001	0.044
3	AT5G18500	protein kinase family protein	0.038	0.007
3	AT3G45980	HTB9; DNA binding	0.018	0.049
3	AT1G22550	proton-dependent oligopeptide transport (POT) family protein	0.027	0.033
3	AT4G33520	PAA1 (metal-transporting P-type ATPase 1); ATPase, coupled to transmembrane movement of ions, phosphorylative mechanism	0.034	0.005
3	AT5G66190	ATLFNR1 (LEAF FNR 1); NADPH dehydrogenase/ electron transporter, transferring electrons within the cyclic electron transport pathway of photosynthesis/ electron transporter, transferring electrons within the noncyclic electron transport pathway of photosynthesis	0.038	0.006
3	AT4G38220	aminoacylase, putative / N-acyl-L-amino-acid amidohydrolase, putative	0.010	0.013
3	AT5G28500	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT3G04550.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO65032.1)	0.021	0.024
3	AT1G50320	ATHX (THIOREDOXIN X); thiol-disulfide exchange intermediate	0.016	0.013
3	AT1G65230	similar to hypothetical protein [Vitis vinifera] (GB:CAN76393.1)	0.018	0.037
3	AT5G46800	BOU (A BOUT DE SOUFFLE); binding	0.044	0.035
3	AT5G21105	L-ascorbate oxidase/ copper ion binding	0.040	0.006
3	AT4G20760	short-chain dehydrogenase/reductase (SDR) family protein	0.036	0.029
3	AT1G56190	phosphoglycerate kinase, putative	0.013	0.029
3	AT3G44380	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT1G52330.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO48726.1); contains InterPro domain Water Stress and Hypersensitive response (InterPro:IPR013990); contains InterPro domain Harpin-induced 1 (InterPro:IPR010847)	0.023	0.011
3	AT3G52960	peroxiredoxin type 2, putative	0.021	0.015
3	AT3G17040	HCF107 (HIGH CHLOROPHYLL FLUORESCENT 107); binding	0.026	0.013
3	AT4G38520	protein phosphatase 2C family protein / PP2C family protein	0.006	0.033
3	AT1G04530	binding	0.001	0.050
3	AT1G55910	ZIP11 (ZINC TRANSPORTER 11 PRECURSOR); cation transmembrane transporter/	0.022	0.027

		metal ion transmembrane transporter		
3	AT3G52360	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT2G35850.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO39911.1)	0.001	0.049
3	AT5G27360	SFP2; carbohydrate transmembrane transporter/ sugar:hydrogen ion symporter	0.047	0.012
3	AT4G00330	CRCK2 (calmodulin-binding receptor-like cytoplasmic kinase 2); kinase	0.007	0.025
3	AT2G36570	leucine-rich repeat transmembrane protein kinase, putative	0.008	0.026
3	AT1G34210	SERK2 (SOMATIC EMBRYOGENESIS RECEPTOR-LIKE KINASE 2); kinase	0.001	0.045
3	AT2G21280	GC1 (GIANT CHLOROPLAST 1); binding / catalytic/ coenzyme binding	0.016	0.012
3	AT3G28760	similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO14940.1); contains InterPro domain 3-dehydroquinase synthase, prokaryotic-type (InterPro:IPR002812)	0.013	0.015
3	AT5G10320	similar to 80A08_29 [Brassica rapa subsp. pekinensis] (GB:AAZ67614.1)	0.049	0.042
3	AT2G34860	EDA3 (embryo sac development arrest 3); heat shock protein binding / unfolded protein binding	0.022	0.005
3	AT3G02730	ATF1/TRXF1 (THIOREDOXIN F-TYPE 1); thiol-disulfide exchange intermediate	0.022	0.011
3	AT5G13120	peptidyl-prolyl cis-trans isomerase cyclophilin-type family protein	0.018	0.006
3	AT3G11945	ATHST; prenyltransferase	0.015	0.041
3	AT1G09660	KH domain-containing quaking protein, putative	0.009	0.021
3	AT3G26932	DRB3 (DSRNA-BINDING PROTEIN 3); double-stranded RNA binding	0.027	0.045
3	AT3G13560	glycosyl hydrolase family 17 protein	0.019	0.023
3	AT2G03550	hydrolase	0.013	0.008
3	AT1G80640	protein kinase family protein	0.026	0.044
3	AT5G11550	binding	0.005	0.013
3	AT5G38150	PMI15 (plastid movement impaired 15)	0.006	0.010
3	AT3G50530	CRK (CDPK-RELATED KINASE); calcium ion binding / calcium-dependent protein serine/threonine phosphatase/ kinase	0.001	0.037
3	AT5G17630	glucose-6-phosphate/phosphate translocator, putative	0.036	0.043
3	AT3G16520	UDP-glucuronosyl/UDP-glucosyl transferase family protein	0.001	0.039
3	AT2G27775	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT2G27800.1); similar to unknown [Populus trichocarpa] (GB:ABK95440.1)	0.045	0.005
3	AT1G16070	AtTLP8 (TUBBY LIKE PROTEIN 8); transcription factor	0.033	0.028
3	AT5G14660	PDF1B (PEPTIDE DEFORMYLASE 1B); peptide deformylase	0.022	0.039
3	AT2G46820	PSAP/PSI-P/PTAC8/TMP14 (THYLAKOID MEMBRANE PHOSPHOPROTEIN OF 14 KDA); DNA binding	0.046	0.010
3	AT5G10390	histone H3	0.001	0.038
3	AT1G26190	phosphoribulokinase/uridine kinase family protein	0.002	0.040
3	AT4G29870	similar to membrane protein, putative [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT2G19340.2); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO43189.1); contains domain PTHR13160 (PTHR13160); contains domain PTHR13160:SF2 (PTHR13160:SF2)	0.038	0.008
3	AT1G34640	similar to Os07g0622900 [Oryza sativa (japonica cultivar-group)] (GB:NP_001060318.1)	0.000	0.007
3	AT4G24460	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT5G19380.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO61583.1); contains domain Multidrug resistance efflux transporter EmrE (SSF103481)	0.047	0.015
3	AT1G44446	CH1 (CHLOROPHYLL B BIOSYNTHESIS); chlorophyllide a oxygenase	0.039	0.033
3	AT3G02020; AT5G14060	[AT3G02020, aspartate kinase, lysine-sensitive, putative];[AT5G14060, CARAB-AK-LYS (Lysine-sensitive aspartate kinase); amino acid binding / aspartate kinase]	0.020	0.037
3	AT4G27700	rhodanese-like domain-containing protein	0.023	0.038
3	AT5G12150	pleckstrin homology (PH) domain-containing protein / RhoGAP domain-containing protein	0.003	0.026
3	AT1G51060	HTA10; DNA binding	0.025	0.016
3	AT3G08680	leucine-rich repeat transmembrane protein kinase, putative	0.022	0.011
3	AT1G50250	FTSH1 (FtsH protease 1); ATP-dependent peptidase/ ATPase/ metallopeptidase	0.002	0.019
3	AT2G23430	ICK1 (KIP-RELATED PROTEIN 1)	0.026	0.039
3	AT2G20570	GPRI1 (GOLDEN2-LIKE 1); transcription factor	0.022	0.013

3	AT5G67280	RLK (RECEPTOR-LIKE KINASE); ATP binding / kinase/ protein serine/threonine kinase	0.000	0.031
3	AT5G42130	mitochondrial substrate carrier family protein	0.037	0.027
3	AT5G58900	myb family transcription factor	0.005	0.044
3	AT5G26180	NOL1/NOP2/sun family protein	0.038	0.021
3	AT3G54660	GR (GLUTATHIONE REDUCTASE); glutathione-disulfide reductase	0.008	0.016
3	AT4G30950	FAD6 (FATTY ACID DESATURASE 6); omega-6 fatty acid desaturase	0.034	0.027
3	AT4G22890	PGR5-LIKE A	0.022	0.029
3	AT1G73930	similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO68016.1); similar to hypothetical protein OsJ_009810 [Oryza sativa (japonica cultivar-group)] (GB:EAZ26327.1); similar to hypothetical protein [Vitis vinifera] (GB:CAN70280.1); contains InterPro domain Protein of unknown function DUF1630 (InterPro:IPRO12860)	0.038	0.013
3	AT2G38970	zinc finger (C3HC4-type RING finger) family protein	0.024	0.033
3	AT5G5480	glycerophosphoryl diester phosphodiesterase family protein	0.046	0.020
3	AT1G28395	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT2G33847.2); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO39903.1)	0.036	0.025
3	AT3G14190	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT5G12360.1)	0.003	0.019
3	AT4G28100	Identical to Uncharacterized GPI-anchored protein At4g28100 precursor [Arabidopsis thaliana] (GB:Q9SUC9;GB:Q8L9X7); similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT3G18050.1); similar to unknown [Populus trichocarpa] (GB:ABK95869.1)	0.012	0.041
3	AT5G61410	RPE (EMBRYO DEFECTIVE 2728); ribulose-phosphate 3-epimerase	0.038	0.008
3	AT4G36810	GGPS1 (GERANYLGERANYL PYROPHOSPHATE SYNTHASE 1); farnesyltransferase	0.007	0.028
3	AT1G16500	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT1G79160.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO47911.1)	0.025	0.025
3	AT1G54690	G-H2AX/GAMMA-H2AX/H2AXB/HTA3; DNA binding	0.031	0.041
3	AT1G32520	similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO63428.1)	0.024	0.040
3	AT5G07590	WD-40 repeat protein family	0.040	0.026
3	AT5G52190	sugar isomerase (SIS) domain-containing protein	0.030	0.023
3	AT5G12470	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT2G40400.2); similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT2G40400.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO21888.1)	0.005	0.010
3	AT5G12850	zinc finger (CCCH-type) family protein	0.048	0.032
3	AT5G02410	DIE2/ALG10 family	0.041	0.035
3	AT3G56580	zinc finger (C3HC4-type RING finger) family protein	0.030	0.049
3	AT1G23360	UbiE/COQ5 methyltransferase family protein	0.011	0.026
3	AT3G28050	nodulin MtN21 family protein	0.025	0.039
3	AT3G55040	In2-1 protein, putative	0.016	0.035
3	AT5G23120	HCF136 (High chlorophyll fluorescence 136)	0.017	0.015
3	AT5G48830	similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO46087.1)	0.037	0.027
3	AT3G45230	hydroxyproline-rich glycoprotein family protein	0.026	0.009
3	AT1G67840	ATP-binding region, ATPase-like domain-containing protein	0.013	0.018
3	AT1G67700	similar to unknown [Populus trichocarpa] (GB:ABK95743.1); contains domain PTHR11804:SF2 (PTHR11804:SF2); contains domain PTHR11804 (PTHR11804)	0.014	0.032
3	AT1G80770	PDE318 (PIGMENT DEFECTIVE 318); GTP binding	0.040	0.019
3	AT1G05200	ATGLR3.4 (Arabidopsis thaliana glutamate receptor 3.4)	0.010	0.013
3	AT1G18850	similar to hypothetical protein [Vitis vinifera] (GB:CAN63140.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO62515.1)	0.017	0.023
3	AT2G43200	dehydration-responsive family protein	0.005	0.049
3	AT3G17390	MTO3 (S-adenosylmethionine synthase 3); methionine adenosyltransferase	0.044	0.033
3	AT5G13630	GUN5 (GENOMES UNCOUPLED 5)	0.024	0.037
3	AT5G01410	PDX1 (PYRIDOXINE BIOSYNTHESIS 1.3); protein heterodimerization/ protein homodimerization	0.002	0.043
3	AT1G11680	CYP51G1 (CYTOCHROME P450 51); oxygen binding	0.042	0.035
3	AT4G35030	protein kinase family protein	0.007	0.050

3	AT4G01050	hydroxyproline-rich glycoprotein family protein	0.016	0.017
3	AT1G72030	GCN5-related N-acetyltransferase (GNAT) family protein	0.016	0.013
3	AT2G33255	hydrolase	0.038	0.033
3	AT4G14910	imidazoleglycerol-phosphate dehydratase, putative	0.034	0.017
3	AT1G15730	PRLI-interacting factor L, putative	0.023	0.047
3	AT2G35660; AT2G29720	[AT2G35660, CTF2A; monooxygenase];[AT2G29720, CTF2B; monooxygenase]	0.003	0.020
3	AT4G03280	PETC (PHOTOSYNTHETIC ELECTRON TRANSFER C)	0.014	0.048
3	AT3G51820	ATG4/CHLG/G4 (CHLOROPHYLL SYNTHASE); chlorophyll synthetase	0.002	0.012
3	AT1G01970	pentatricopeptide (PPR) repeat-containing protein	0.010	0.047
3	AT5G67070	RALFL34 (RALF-LIKE 34)	0.013	0.017
3	AT1G50020	similar to unnamed protein product [<i>Vitis vinifera</i>] (GB:CAO49863.1)	0.009	0.034
3	AT2G31710	similar to unknown protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>] (TAIR:AT1G05780.1); similar to unnamed protein product [<i>Vitis vinifera</i>] (GB:CAO41937.1)	0.018	0.001
3	AT1G34065	SAMC2 (S-adenosylmethionine carrier 2); binding	0.049	0.006
3	AT4G33630	EX1 (EXECUTER1)	0.037	0.015
3	AT1G72310	ATL3 (<i>Arabidopsis thaliana</i> Levadura 3); protein binding / zinc ion binding	0.043	0.043
3	AT3G57030	strictosidine synthase family protein	0.012	0.038
3	AT5G60600	GcpE (CHLOROPLAST BIOGENESIS 4); 4-hydroxy-3-methylbut-2-en-1-yl diphosphate synthase	0.032	0.009
3	AT1G74090	sulfotransferase family protein	0.003	0.045
3	AT2G36230	APG10 (ALBINO AND PALE GREEN 10); 1-(5-phosphoribosyl)-5-[(5-phosphoribosylamino)methylideneamino]imidazole-4-carboxamide isomerase	0.008	0.018
3	AT3G04770	RPSAB (40S RIBOSOMAL PROTEIN SA B); structural constituent of ribosome	0.023	0.048
3	AT5G64780	similar to unknown protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>] (TAIR:AT4G09830.1); similar to unnamed protein product [<i>Vitis vinifera</i>] (GB:CAO71731.1); similar to hypothetical protein [<i>Vitis vinifera</i>] (GB:CAN64859.1); contains InterPro domain Uncharacterised conserved protein UCP009193 (InterPro:IPR016549)	0.024	0.014
3	AT2G04280	similar to unknown protein [<i>Arabidopsis thaliana</i>] (TAIR:AT4G12700.1); similar to Os10g0456400 [<i>Oryza sativa</i> (japonica cultivar-group)] (GB:NP_001064754.1); similar to unnamed protein product [<i>Vitis vinifera</i>] (GB:CAO41132.1)	0.002	0.037
3	AT2G20890	PSB29 (THYLAKOID FORMATION1)	0.015	0.028
3	AT4G14300	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein, putative / hnRNP, putative	0.030	0.017
3	AT4G29080	PAP2 (PHYTOCHROME-ASSOCIATED PROTEIN 2); transcription factor	0.042	0.018
3	AT5G62890	permease, putative	0.018	0.032
3	AT5G46570	protein kinase family protein	0.016	0.048
3	AT3G28130	nodulin MtN21 family protein	0.002	0.034
3	AT3G46740	TOC75-III (translocon outer membrane complex 75-III); P-P-bond-hydrolysis-driven protein transmembrane transporter	0.012	0.014
3	AT2G26580	YAB5 (YABBY5); transcription factor	0.001	0.018
3	AT2G42110	similar to unknown [<i>Populus trichocarpa</i>] (GB:ABK94541.1); similar to unknown [<i>Populus trichocarpa</i>] (GB:ABK92893.1); contains domain PTHR10270:SF18 (PTHR10270:SF18); contains domain PTHR10270 (PTHR10270)	0.022	0.010
3	AT1G53670	MSRB1 (METHIONINE SULFOXIDE REDUCTASE B 1); peptide-methionine-(S)-S-oxide reductase	0.028	0.021
3	AT2G27290	similar to unnamed protein product [<i>Vitis vinifera</i>] (GB:CAO48682.1); contains InterPro domain Protein of unknown function DUF1279 (InterPro:IPR009688)	0.031	0.013
3	AT2G38330	MATE efflux family protein	0.028	0.018
3	AT3G07330	ATCSLC06 (Cellulose synthase-like C6); transferase, transferring glycosyl groups	0.049	0.014
3	AT1G67280	lactoylglutathione lyase, putative / glyoxalase I, putative	0.037	0.026
3	AT2G47840	tic20 protein-related	0.025	0.041
3	AT4G13840	transferase family protein	0.000	0.041
3	AT1G63970	ISPF (Homolog of <i>E. coli</i> ispF (isoprenoids F)); 2-C-methyl-D-erythritol 2,4-cyclodiphosphate synthase	0.025	0.016
3	AT1G16060	ovule development protein, putative	0.003	0.025
3	AT3G09260	PYK10 (phosphate starvation-response 3.1); hydrolase, hydrolyzing O-glycosyl	0.046	0.021

		compounds		
3	AT2G04390; AT5G04800; AT2G05220	[AT2G04390, 40S ribosomal protein S17 (RPS17A)];[AT5G04800, 40S ribosomal protein S17 (RPS17D)];[AT2G05220, 40S ribosomal protein S17 (RPS17B)]	0.044	0.014
3	AT5G08620	STRS2 (STRESS RESPONSE SUPPRESSOR 2); ATP-dependent helicase	0.014	0.038
3	AT5G11630	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT4G17310.1); similar to unknown [Populus trichocarpa] (GB:ABK94391.1)	0.016	0.034
3	AT5G59250	sugar transporter family protein	0.007	0.035
3	AT3G18790	similar to hypothetical protein [Vitis vinifera] (GB:CAN60270.1); contains InterPro domain Isy1-like splicing (InterPro:IPR009360)	0.005	0.040
3	AT5G65310	ATHB5 (ARABIDOPSIS THALIANA HOMEBOX PROTEIN 5); transcription factor	0.017	0.029
3	AT3G25520	ATL5 (A. THALIANA RIBOSOMAL PROTEIN L5); structural constituent of ribosome	0.012	0.044
3	AT1G04340	lesion inducing protein-related	0.036	0.012
3	AT3G13670	protein kinase family protein	0.048	0.020
3	AT5G15520	40S ribosomal protein S19 (RPS19B)	0.018	0.038
3	AT5G04590	SIR (sulfite reductase); sulfite reductase (ferredoxin)	0.012	0.036
3	AT3G22530	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT4G14830.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO71186.1); contains InterPro domain HSP20-like chaperone (InterPro:IPR008978)	0.023	0.030
3	AT2G23740	nucleic acid binding / transcription factor/ zinc ion binding	0.025	0.038
3	AT1G72170	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT1G22520.1); similar to unknown [Populus trichocarpa] (GB:ABK94376.1); similar to Os03g0840900 [Oryza sativa (japonica cultivar-group)] (GB:NP_001051850.1); contains InterPro domain Protein of unknown function DUF543 (InterPro:IPR007512)	0.041	0.033
3	AT5G50210	QS (QUINOLINATE SYNTHASE); quinolinate synthetase A	0.008	0.034
3	AT5G49940	NFU2 (NFU domain protein 2)	0.034	0.041
3	AT2G36160	40S ribosomal protein S14 (RPS14A)	0.030	0.012
3	AT1G78140	methyltransferase-related	0.036	0.038
3	AT2G41530	ATSF6G (ARABIDOPSIS THALIANA S-FORMYLGLUTATHIONE HYDROLASE); S-formylglutathione hydrolase/ hydrolase, acting on ester bonds	0.039	0.030
4	AT1G22870	protein kinase family protein	0.027	0.023
4	AT2G02370	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT1G12450.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO22255.1); contains InterPro domain SNARE associated Golgi protein (InterPro:IPR015414)	0.032	0.025
4	AT3G25710	basic helix-loop-helix (bHLH) family protein	0.000	0.022
4	AT4G34370	IBR domain-containing protein	0.042	0.037
4	AT4G36650	transcription factor IIB (TFIIB) family protein	0.038	0.007
4	AT4G29940	PRHA (PATHOGENESIS RELATED HOMEODOMAIN PROTEIN A); transcription factor	0.023	0.039
4	AT3G11960	cleavage and polyadenylation specificity factor (CPSF) A subunit C-terminal domain-containing protein	0.044	0.020
4	AT3G15760	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT1G52565.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO62742.1)	0.047	0.046
4	AT1G01260	basic helix-loop-helix (bHLH) family protein	0.004	0.048
4	AT3G58640	protein kinase family protein	0.014	0.013
4	AT4G28240	wound-responsive protein-related	0.004	0.015
4	AT1G08630	THA1 (THREONINE ALDOLASE 1); aldehyde-lyase/ threonine aldolase	0.049	0.029
4	AT4G16500	cysteine protease inhibitor family protein / cystatin family protein	0.013	0.049
4	AT2G41640	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT3G57380.1); similar to glycosyltransferase [Medicago truncatula] (GB:CAI30145.1); contains InterPro domain Protein of unknown function DUF563 (InterPro:IPR007657)	0.024	0.005
4	AT3G16800	protein phosphatase 2C, putative / PP2C, putative	0.032	0.026
4	AT1G66400	calmodulin-related protein, putative	0.026	0.027
4	AT1G17520	DNA-binding protein, putative	0.003	0.027
4	AT1G77500	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT1G21740.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO61884.1); contains InterPro domain Protein of unknown function DUF632 (InterPro:IPR006867); contains	0.025	0.039

		InterPro domain Protein of unknown function DUF630 (InterPro:IPR006868)		
4	AT1G69010	BIM2 (BES1-INTERACTING MYC-LIKE PROTEIN 2); DNA binding / transcription factor	0.012	0.029
4	AT2G44480	glycosyl hydrolase family 1 protein	0.046	0.021
4	AT2G16710	hesB-like domain-containing protein	0.041	0.038
4	AT2G01150	RHA2B (RING-H2 FINGER PROTEIN 2B); protein binding / zinc ion binding	0.011	0.031
4	AT5G13700	APAO/ATPAO1 (POLYAMINE OXIDASE 1); FAD binding / polyamine oxidase	0.020	0.004
4	AT4G13560	UNE15 (unfertilized embryo sac 15)	0.039	0.027
4	AT2G41070	EEL (ENHANCED EM LEVEL); DNA binding / transcription factor	0.028	0.016
4	AT2G45600	hydrolase	0.002	0.034
4	AT1G29330	ERD2 (ER lumen protein retaining receptor 2); receptor	0.016	0.043
4	AT5G26770	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT3G05830.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO17354.1)	0.022	0.007
4	AT4G15330	CYP705A1 (cytochrome P450, family 705, subfamily A, polypeptide 1); oxygen binding	0.031	0.041
4	AT4G12290; AT4G12280	[AT4G12290, copper amine oxidase, putative];[AT4G12280, copper amine oxidase family protein]	0.009	0.017
4	AT4G30490	AFG1-like ATPase family protein	0.010	0.048
4	AT3G54200	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT3G05975.1); similar to Harpin-induced 1 [Medicago truncatula] (GB:ABE93043.1); contains InterPro domain Harpin-induced 1 (InterPro:IPR010847)	0.045	0.046
4	AT3G24500	ATMBF1C/MBF1C (MULTIPROTEIN BRIDGING FACTOR 1C); DNA binding / transcription coactivator/ transcription factor	0.027	0.042
4	AT4G21500	similar to unknown protein [Arabidopsis thaliana] (TAIR:AT4G05018.1); similar to unnamed protein product [Vitis vinifera] (GB:CAO16605.1)	0.021	0.006
4	AT1G04180	flavin-containing monooxygenase family protein / FMO family protein	0.028	0.047
4	AT1G77200	AP2 domain-containing transcription factor TINY, putative	0.036	0.045

Tabla S2. Análisis de ontologías génicas.

Grupo	Terminos ontologías génicas	p-valor	FR	Genes ID	
1	GO:0048869	cellular developmental process	0.007	6.661	AT1G75500 AT5G19530 AT1G33240 AT1G70940 AT4G39400 AT2G38120 AT5G54380
	GO:0009926	auxin polar transport	0.010	112.920	AT1G70940 AT5G19530 AT2G38120
	GO:0032350	regulation of hormone metabolic process	0.010	22.093	AT5G42750 AT1G75500
	GO:0016049	cell growth	0.020	6.999	AT1G75500 AT1G70940 AT4G39400 AT5G54380 AT5G19530
2	GO:0019438	aromatic compound biosynthetic process	2.33E-05	9.224	AT5G14700 AT3G21230 AT4G39980 AT5G22630 AT1G78570 AT4G34050 AT1G22410 AT5G54160 AT5G05730 AT2G23910 AT5G38530
	GO:0009699	phenylpropanoid biosynthetic process	0.005	9.082	AT5G14700 AT3G21230 AT4G34050 AT5G54160 AT1G78570 AT2G23910
	GO:0019748	secondary metabolic process	0.010	4.516	AT5G14700 AT3G21230 AT1G78570 AT2G30860 AT4G34050 AT5G54160 AT1G79460 AT3G57010 AT2G23910
3	GO:0009767	photosynthetic electron transport chain	4.75E-05	17.641	AT1G15980 AT5G66190 AT4G33520 AT4G03280 AT2G46820 AT4G22890 AT2G01590 AT4G01050
	GO:0006091	generation of precursor metabolites and energy	0.002	5.077	AT1G15980 AT1G56190 AT4G33520 AT1G42970 AT2G46820 AT2G01590 AT4G22890 AT4G01050 AT1G45474 AT5G66190 AT4G03280 AT5G50210
	GO:0015994	chlorophyll metabolic process	0.004	11.195	AT5G01410 AT1G44446 AT5G13630 AT4G18480 AT1G63970 AT3G51820
	GO:0009657	plastid organization	0.004	6.468	AT3G46740 AT2G20570 AT5G23120 AT5G38150 AT5G49940 AT3G17040 AT1G09340 AT2G21280