

RECHERCHE *IN SILICO* DES GENES ET DES PROTEINES ENCODEES POUR LA TOLERANCE AU STRESS SALIN CHEZ LA LEGUMINEUSE *Vicia faba* L.

AMOURI Adel Amar *, BELKHODJA Moulay
Plant Physiology laboratory, Biology Department, University of Oran 1, Algeria
 E-mail: amouriaa@yahoo.fr; amouri.adel@univ-oran1.dz

(Received 13 July 2021 – Accepted 24 December 2021)

Résumé.- Les stress abiotiques affectent la productivité végétale et le rendement agricole, en particulier les légumineuses. L'identification des gènes et des protéines de tolérance au stress s'avère importante pour l'amélioration de la tolérance de ces plantes. En plus de l'approche *in vitro* et *in vivo*, l'approche *in silico*, en utilisant les outils bioinformatiques, représente une démarche prédictive et complémentaire par rapport aux autres approches. Dans cette étude, des protéines et des gènes de tolérance au stress salin ont été identifiés *in silico* chez *Vicia faba* L., en utilisant les bases de données moléculaires (NCBI, EMBL-EBI et UniProt) et l'outil Blast. L'analyse a permis d'identifier les protéines et leurs gènes codants en recherchant des similarités de fonction chez des espèces modèles *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh et *Medicago truncatula* Gaertner. Les résultats ont montré des similitudes de séquences assez significatives ($E\text{-value} = 0$) et un score assez élevé (fort pourcentage d'identité). On cite par exemple, les protéines: «Abscisic acid activated protein kinase», «Serine/ threonine protein kinase; SRK2I» et «Serine/ threonine protein kinase SRK2E» pour le stress salin.

Mots clés: *Vicia faba* L., stress salin, gènes, protéines, *in silico*, plantes modèles.

IN SILICO RESEARCH OF GENES AND ENCODED PROTEINS FOR SALT STRESS TOLERANCE IN THE LEGUMINOUS *Vicia faba* L.

Abstract.- Abiotic stresses affect plant productivity and crop yield, especially legumes. Identifying stress tolerance genes and proteins is important for improving stress tolerance in plants. In addition to the *in vitro* and *in vivo* approach, the *in silico* approach, using bioinformatics tools, represents a predictive and complementary demarche compared to other approaches. In this study, proteins and genes for salt stress tolerance were identified *in silico* in *Vicia faba* L., using molecular databases (NCBI, EMBL-EBI and UniProt) and the Blast tool. The analysis made it possible to identify the stress proteins and their coding genes by looking for similarities of function in the model species *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh and *Medicago truncatula* Gaertner. The results showed quite significant sequence similarities ($E\text{-value} = 0$) and a high score (high percentage of identity). For example, the proteins "Abscisic acid activated protein kinase", "Serine/ threonine protein kinase; SRK2I" and "Serine/ threonine protein kinase SRK2E" for salt stress.

Key words: *Vicia faba* L., salt stress, genes, proteins, *in silico*, model plants.

Introduction

L'amélioration génétique des légumineuses est l'ensemble de la démarche scientifique et technique qui permet de mettre à la disposition de l'agriculture des variétés de plus en plus performantes au service de l'homme [1]. L'évolution de la biologie des dix dernières années montre qu'à côté des approches classiques *in vivo* et *in vitro*, une troisième approche s'est imposée, à savoir l'analyse *in silico*, plus couramment appelée bioinformatique [2]. La bioinformatique recourt à des méthodes comparatives en utilisant des logiciels de comparaison qui explorent les bases de données moléculaires (gènes et

protéines déjà identiques et annotés) leur principale mission est de rendre publique les séquences qui ont été déterminées. L'un des intérêts de ces banques est la masse de séquences qu'elles contiennent. On n'y trouve également une bibliographie et une expertise biologique directement liées aux séquences traitées [3]. Les légumineuses sont largement utilisées pour l'alimentation humaine et animale. Elles constituent après les céréales, la seconde source des protéines pour l'alimentation humaine et, représentent une source de protéines importantes, comme alternative aux protéines animales [4]. Les légumineuses sont soumises à des contraintes environnementales comme la salinité qui est l'un des stress abiotiques affectant de manière significative la croissance des plantes et la qualité des graines [5]. Les légumineuses sont des plantes très importantes sur le plan écologique et agricole car elles sont capables d'interagir en symbiose avec des rhizobiums pour la fixation biologique de l'azote, ce qui évite l'utilisation d'engrais chimiques qui affectent la rhizosphère et polluent l'atmosphère, en plus, la symbiose mycorhizienne, joue un rôle important dans la réhabilitation des sols dégradés dans les zones semi-arides [6]. La voie vers de meilleures légumineuses alimentaires et fourragères nécessite une connaissance détaillée des différents gènes impliqués dans les voies biochimiques menant aux composés nutritionnels clés, y compris les modèles d'expression et les niveaux de ces gènes et leurs interactions en utilisant les outils de la génomique (structurale et fonctionnelle), la bioinformatique et la génomique comparative (analyse de la syntenie). La conservation des séquences de gènes parmi les espèces de légumineuses et la découverte de nouveaux gènes, offre de nouvelles possibilités pour l'analyse des séquences géniques chez *Vicia faba* L. et d'évaluer leur impact sur les traits phénotypiques afin de pouvoir définir les collections de base, ce qui aidera à la découverte de gènes et d'allèles d'intérêt [7]. De nos jours, l'approche *in silico* en utilisant les outils bioinformatiques et de génomique, permet la prédiction des fonctions de certains gènes et protéines impliqués dans la tolérance aux stress via les bases de données biologiques disponibles dans le web, par la comparaison de leurs séquences. Dans ce contexte, l'objectif de l'étude est l'identification *in silico* des protéines et des gènes de tolérance à la salinité comme stress abiotique chez *Vicia faba* L. (Fabaceae) par l'interrogation des bases de données moléculaires généralistes (NCBI et EMBL-EBI) et aussi la base de données spécialisée des protéines (UniProt) en recherchant des similitudes de séquences, qui expliquerait la similarité de fonction avec les molécules trouvées chez les espèces modèles *Arabidopsis thaliana* et *Medicago truncatula* (légumineuse) dont leurs génomes ont été séquencés.

1.- Matériel et Méthodes

1.1.- Matériel d'étude

La recherche *in silico* des gènes et des protéines de tolérance aux stress abiotiques nécessite un matériel végétal et des bases de données.

Le matériel utilisé dans cette étude est constitué d'une espèce cible *Vicia faba* L. ($2n = 12$) et des deux espèces modèles, *Arabidopsis thaliana* ($2n = 10$) et *Medicago truncatula* Gaertn. ($2n=16$) toutes diploïdes. Nous avons choisis ces deux espèces car leur génome est complètement séquencé [8,9].

Les bases de données consultées pour collecter de données sur les protéines et des gènes de tolérance aux stress abiotiques issus du matériel végétal d'étude sont:

- La base de données NCBI ([http:// www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov))

La figure 1, montre la page d'accueil de la base de données NCBI (National Center for Biotechnology Information)

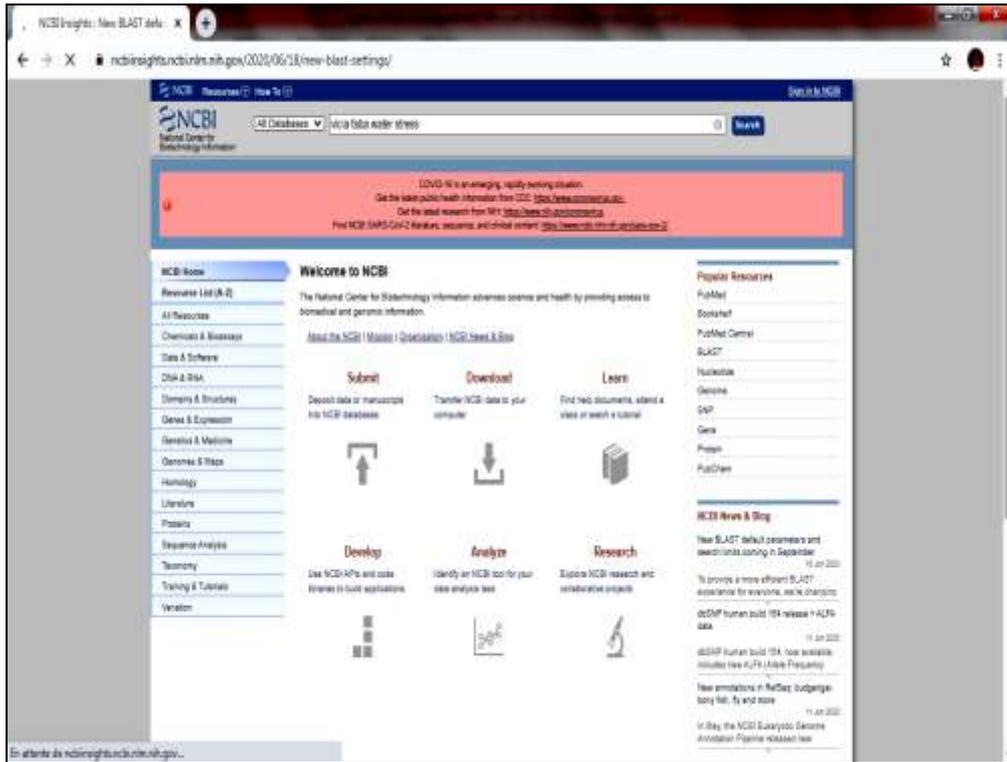


Figure 1.- Interface NCBI (page d'accueil)

- La base de données EMBL-EBI (<http://www.ebi.ac.uk/>).

La figure 2 montre la page d'accueil de la base de données EMBL-EBI (European Bio-informatics Institute).

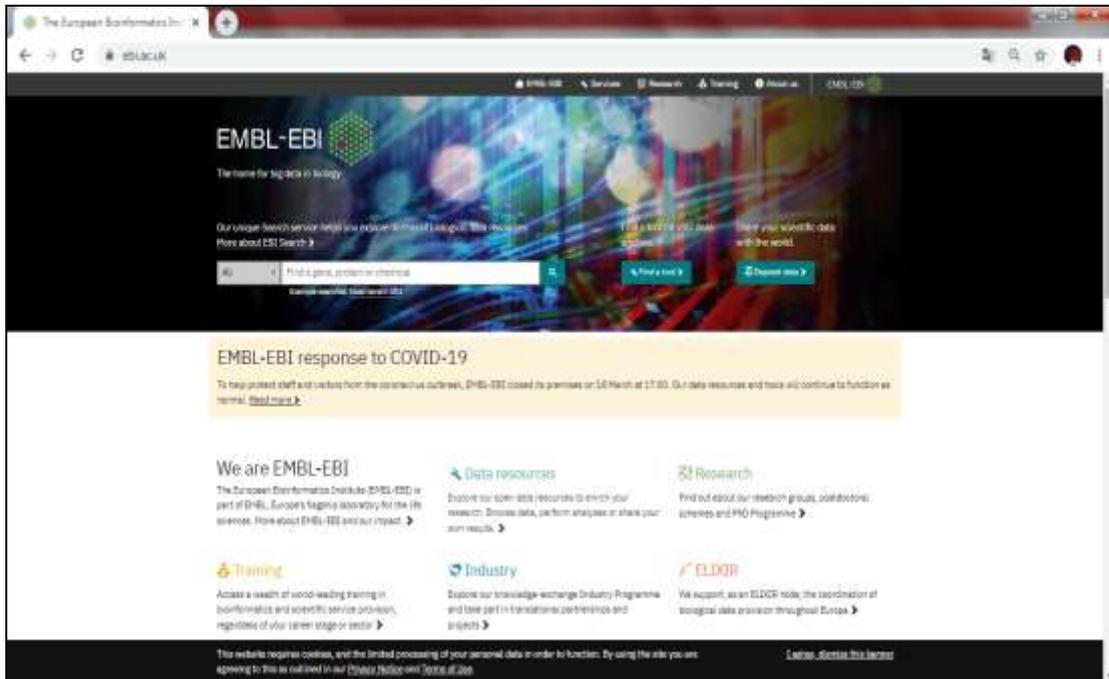


Figure 2.- Interface EMBL-EBI (page d'accueil)

- La base de données spécialisée UniProt (<http://www.uniprot.org>)

La figure 3 montre la page d'accueil de la base de données protéique UniProt.

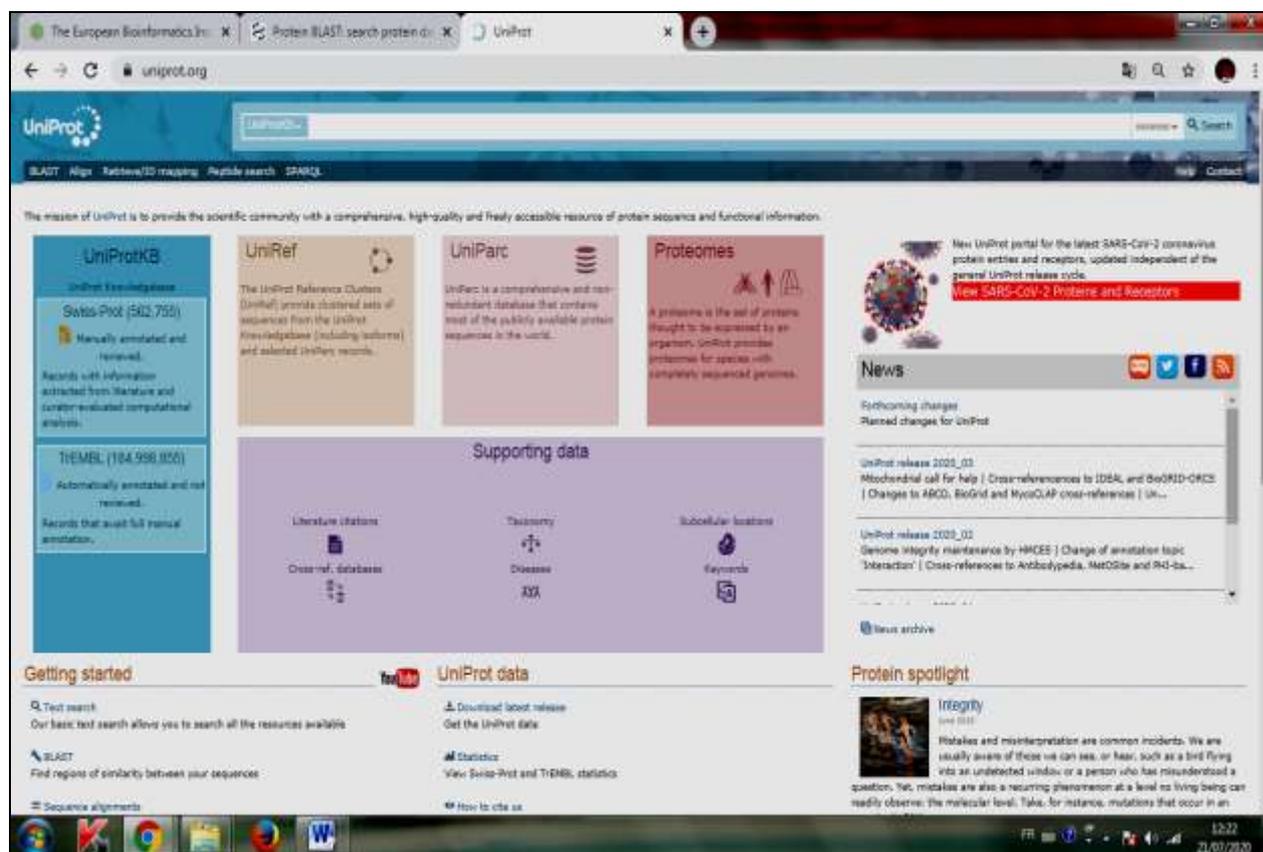


Figure 3.- Interface UniProt (page d'accueil)

1.2.- Méthode d'étude

1.2.1.- Recherche des protéines et des gènes en relation avec les stress abiotiques en utilisant la base de données NCBI

Les étapes de recherche *in silico* (fig. 4) sont résumées dans les points suivants:

- consulter la base de données NCBI;
- écrire les mots clés en Anglais (par exemple, *Vicia faba* water stress) dans le moteur de recherche;
- choisir (all databases) pour généraliser la recherche.

1.2.2.- Recherche des protéines et des gènes de tolérance aux stress abiotiques en utilisant les bases de données EMBL-EBI

Les étapes de recherche *in silico* (fig. 5) sont comme suit:

- consulter la base de données EMBL-EBI;
- écrire les mots clés en Anglais (par exemple, *Vicia faba* cold stress) dans le moteur de recherche.
- choisir (all databases) pour généraliser la recherche;

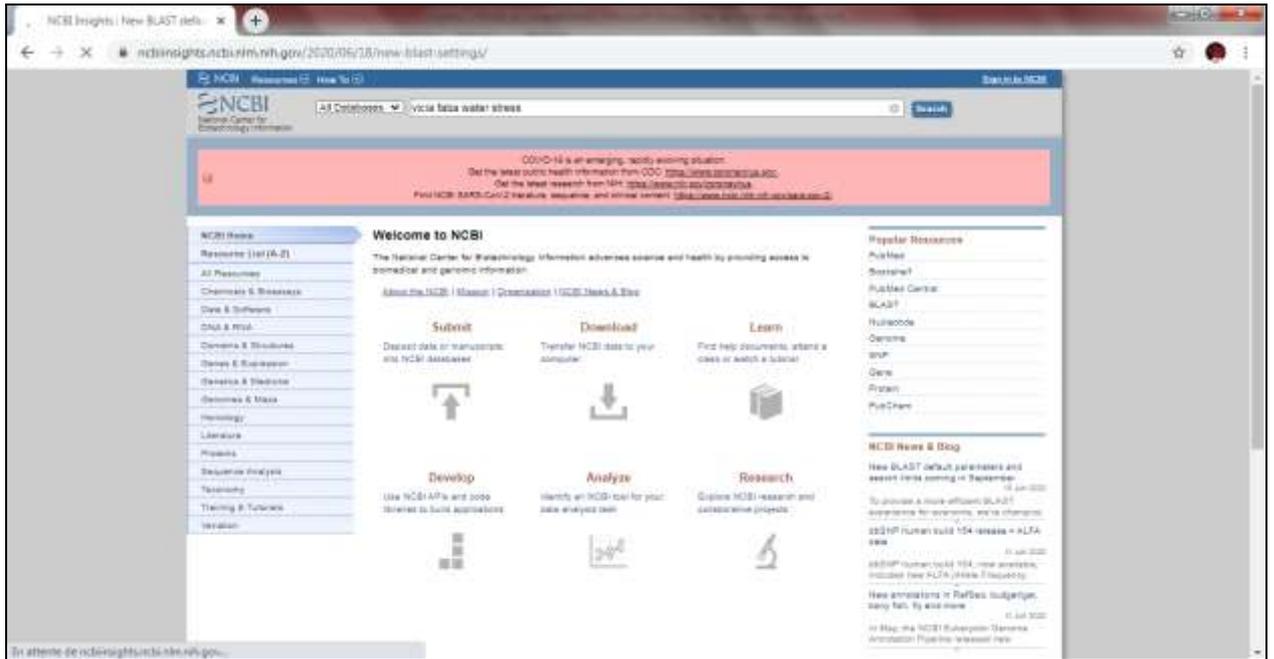


Figure 4.- Interrogation de la base de données NCBI

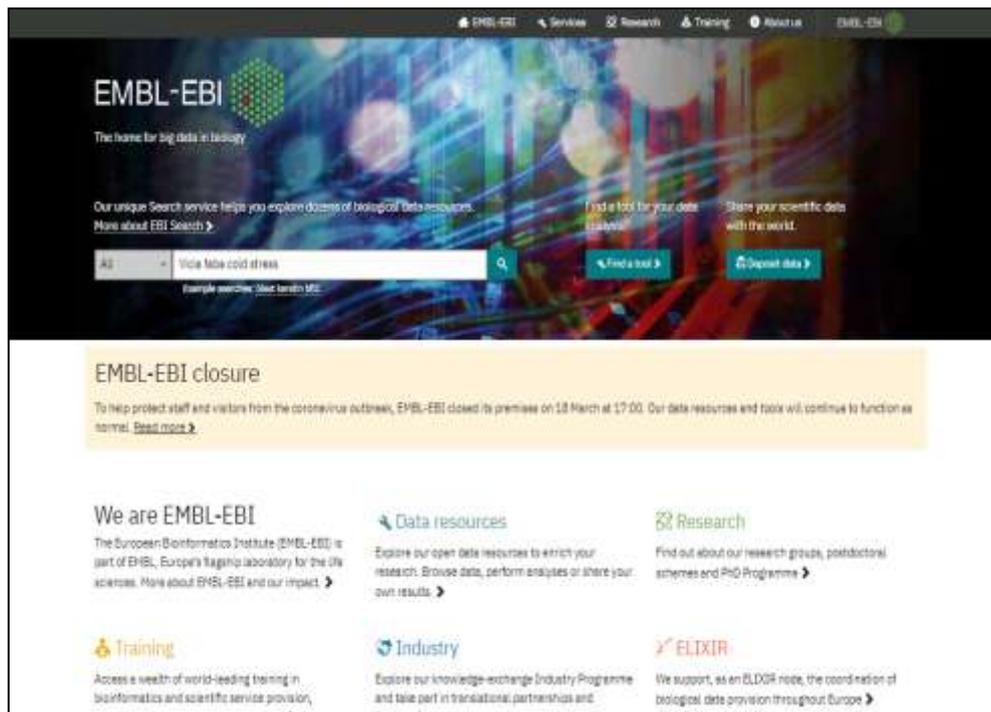


Figure 5.- Interrogation de la base de données EMBL-EBI

1.2.3.- Identification et recherche de similitude de séquence des gènes et des protéines avec l’outil BLAST

- Les étapes de recherche à suivre sont:
- choix de molécule parmi les séquences protéiques «protéine séquence»,
- appliquer BLAST-UniProt de la protéine en question,
- accéder au BLASTp-NCBI pour la recherche d’une similitude de séquence protéique avec organisme cible *Vicia faba* (fig. 6.a et fig. 6.b),

- dans la fenêtre de la page BLASTp faire entrer la séquence trouvée du gène ou de la protéine chez *Vicia faba* en la copiant dans la case de la séquence requête ou en insérant son numéro d'accésion,
- cliquer sur le bouton BLAST pour savoir s'il y a des séquences similaires.



Figure 6.a.- Page d'accueil BLAST intégré dans la base de données NCBI

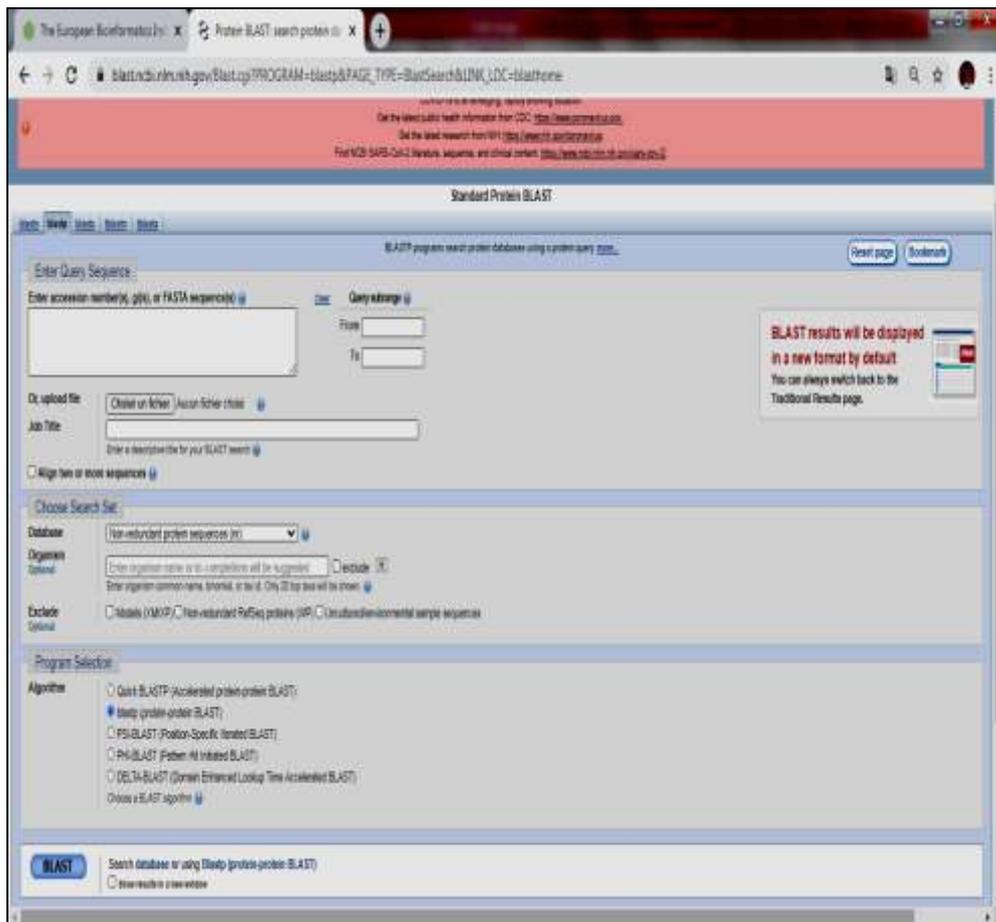


Figure 6.b.- Recherche de similitude de séquence protéique (BLAST-P)

2.- Résultats et interprétation

Les résultats de recherche obtenus via NCBI sont représentés sur les figures 7a et 7b. Aucune protéine ou gène n'ont été trouvés, sauf séquences nucléotidiques au nombre de 18.



Figure 7.a.- Interrogation de la base de données NCBI

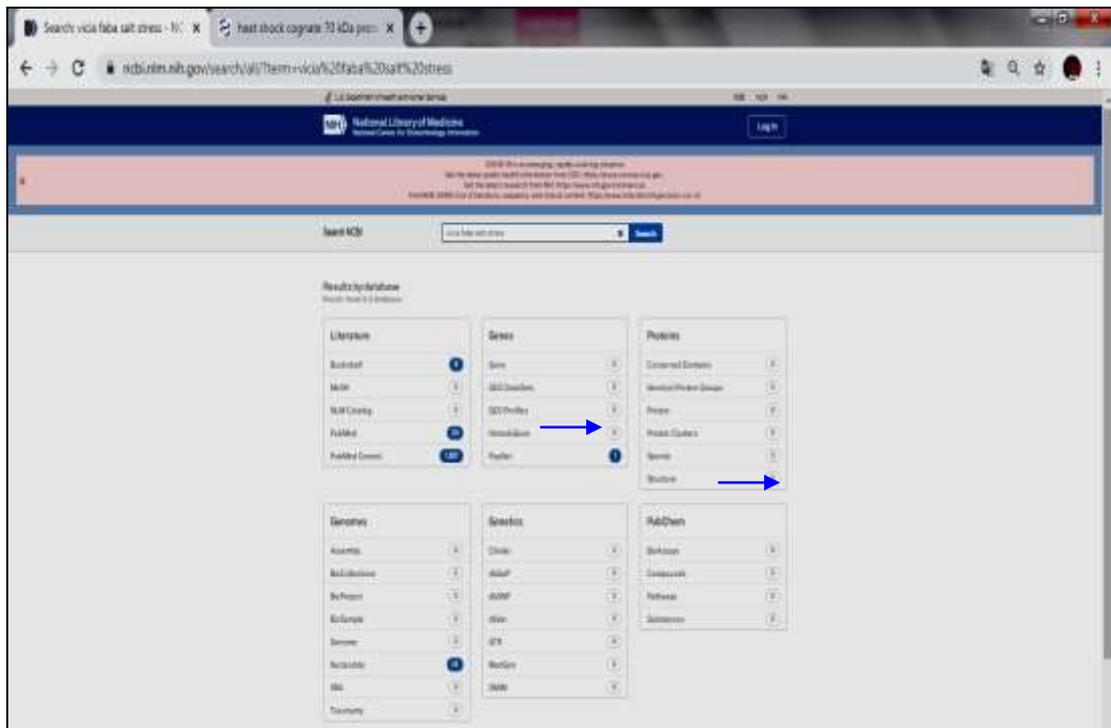


Figure 7.b.- Résultats de recherche des gènes et des protéines par NCBI

Les résultats de recherche obtenus via EMBL-EBI sont regroupés comme suit: le nombre de séquences protéiques (1), les gènes exprimés (2), les enzymes (5) et la littérature (23) (fig. 8 et 9).

En cliquant sur la séquence requête SRK2E, la base de données EMBL-EBI nous bascule directement vers la base de données spécialisé Uniprot (<http://www.uniprot.org/>). La base de données spécialisée «Uniprot» donne une liste des différentes espèces possédant des séquences protéiques de type SRK2E avec une identité comprise entre 90 ou 100% (fig. 10).

Les résultats montrent que l'espèce modèle *Arabidopsis thaliana* est l'espèce représentative avec 100% d'identité avec SRK2E.

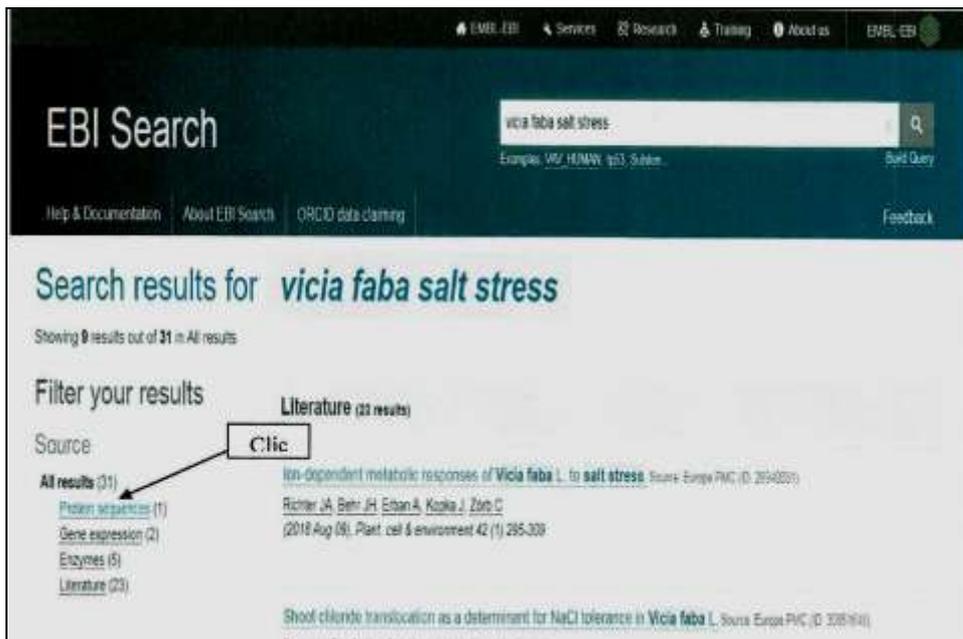


Figure 8.- Résultats de recherche des gènes et des protéines par EMBL-EBI.

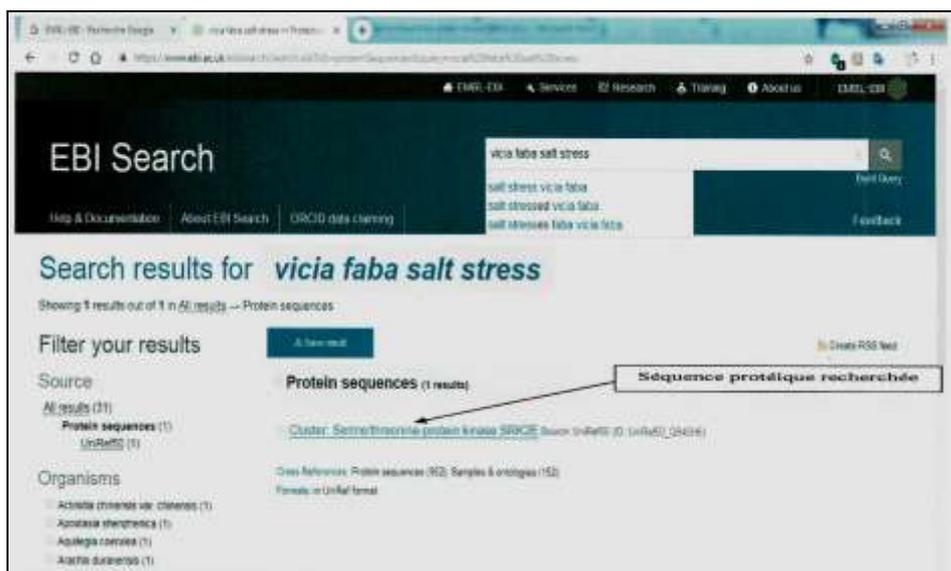


Figure 9.- Informations sur la protéine kinase «SRK2E» trouvée par EMBL-EBI

Les résultats obtenus (fig. 12) par Blast donnent un tableau qui classe les protéines similaires par ordre décroissant selon la significativité (E-value). Parmi les protéines classées, la première protéine kinase activée par l'ABA «Aabscisic acid activated protéin kinase» est sélectionnée (AAF27340.1) chez *Vicia faba*, avec une E-value = 0, un pourcentage de 78 % d'identité et un score 571.

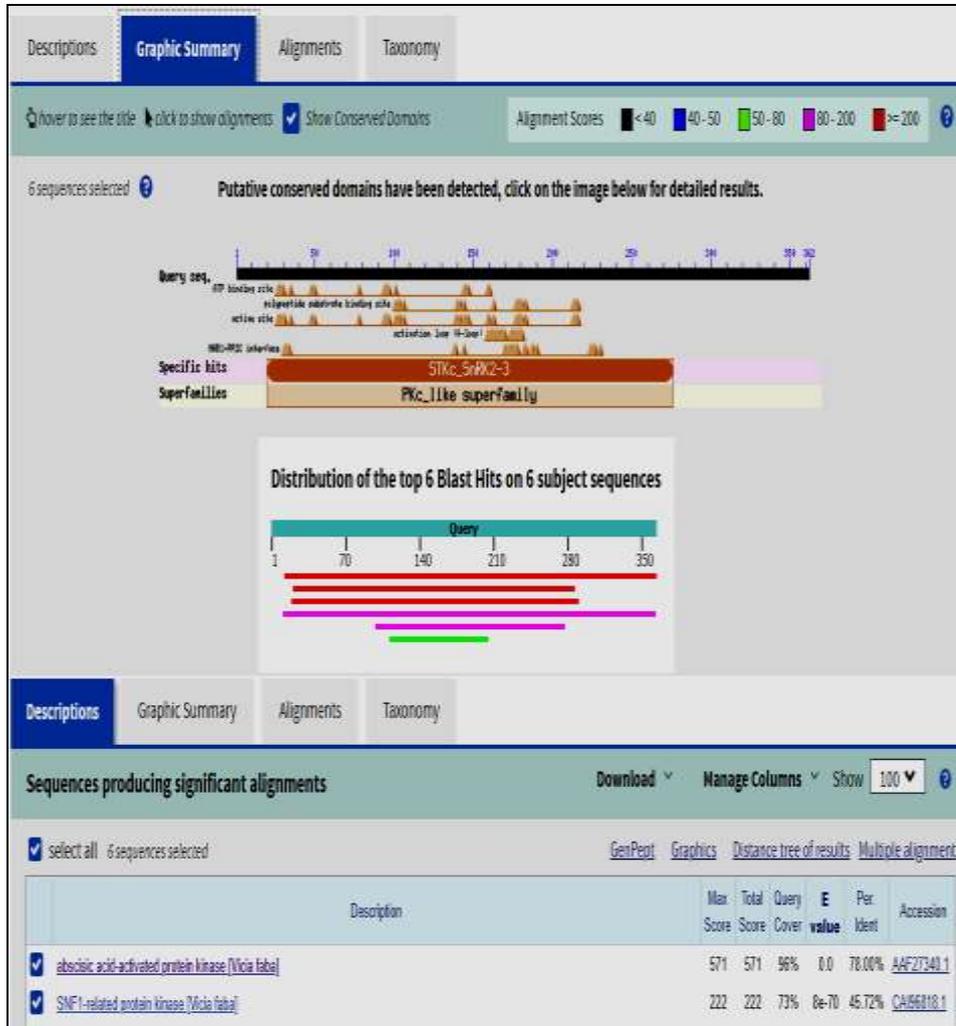


Figure 12.- Résultats de similitude de séquence «SRK2E» chez *Vicia faba* par BLAST p-NCBI

2.2.- Recherche de similitude de séquence chez *Medicago truncatula* de la protéine kinase activée par l'ABA chez *Vicia faba*

Les résultats obtenus par blast (fig. 13) de la protéine kinase activée par l'ABA chez la légumineuse *Medicago truncatula* sont représentés sur les figures 14 et 15.

La protéine similaire trouvée chez *Medicago truncatula* est la «serine/ threonine protein kinase» SRK2I, avec une identité de 92.31%, une E-value = 0 et un score de 644. Ce résultat a permis d'identifier le gène codant cette protéine, qui est en relation avec le stress salin (fig. 16).

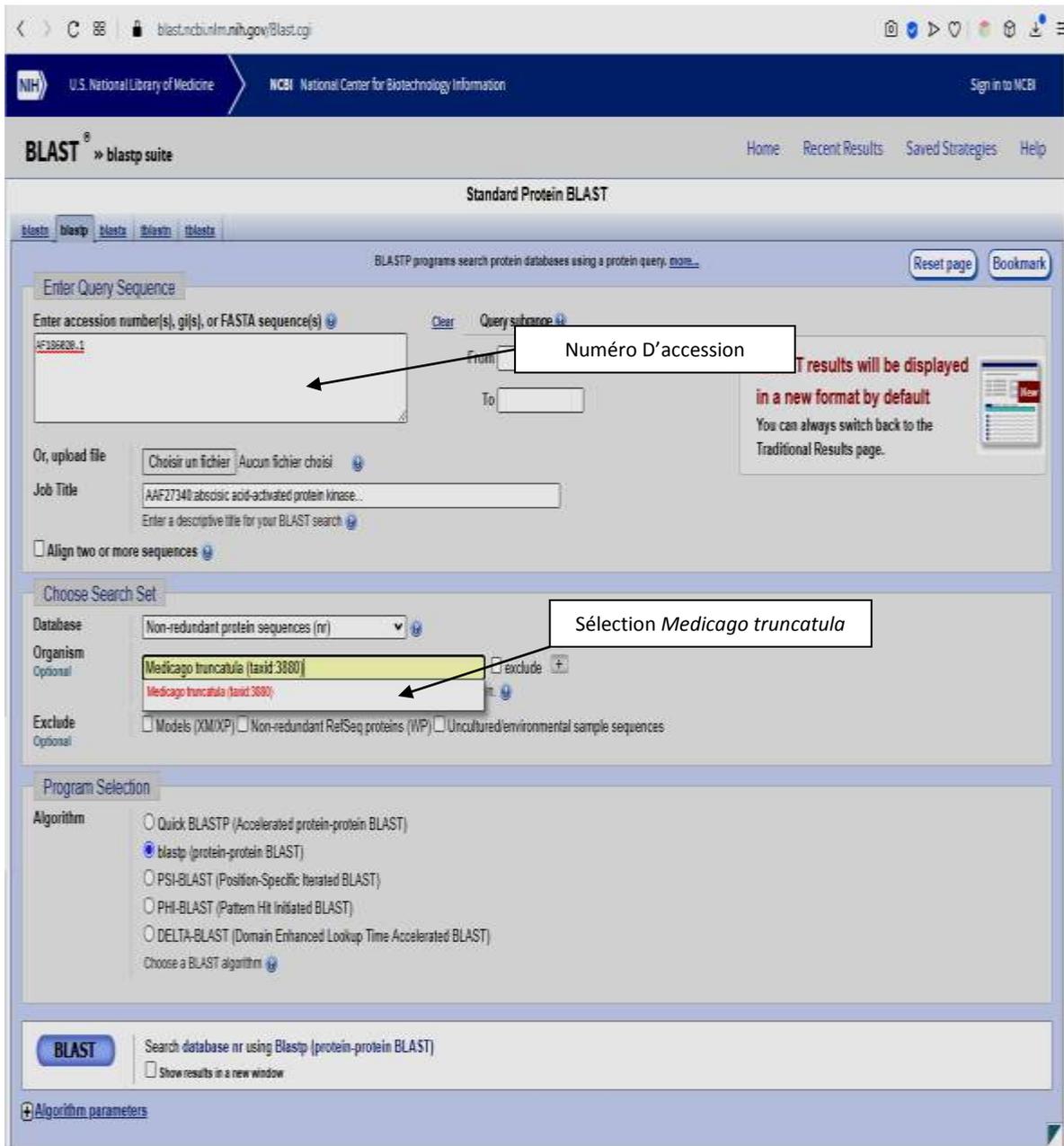


Figure 13.- Recherche de similitude de séquences de la protéine «abscisic acid activated protein kinase» (AAF27340.1) de *Vicia faba* chez *Medicago truncatula* par BLAST

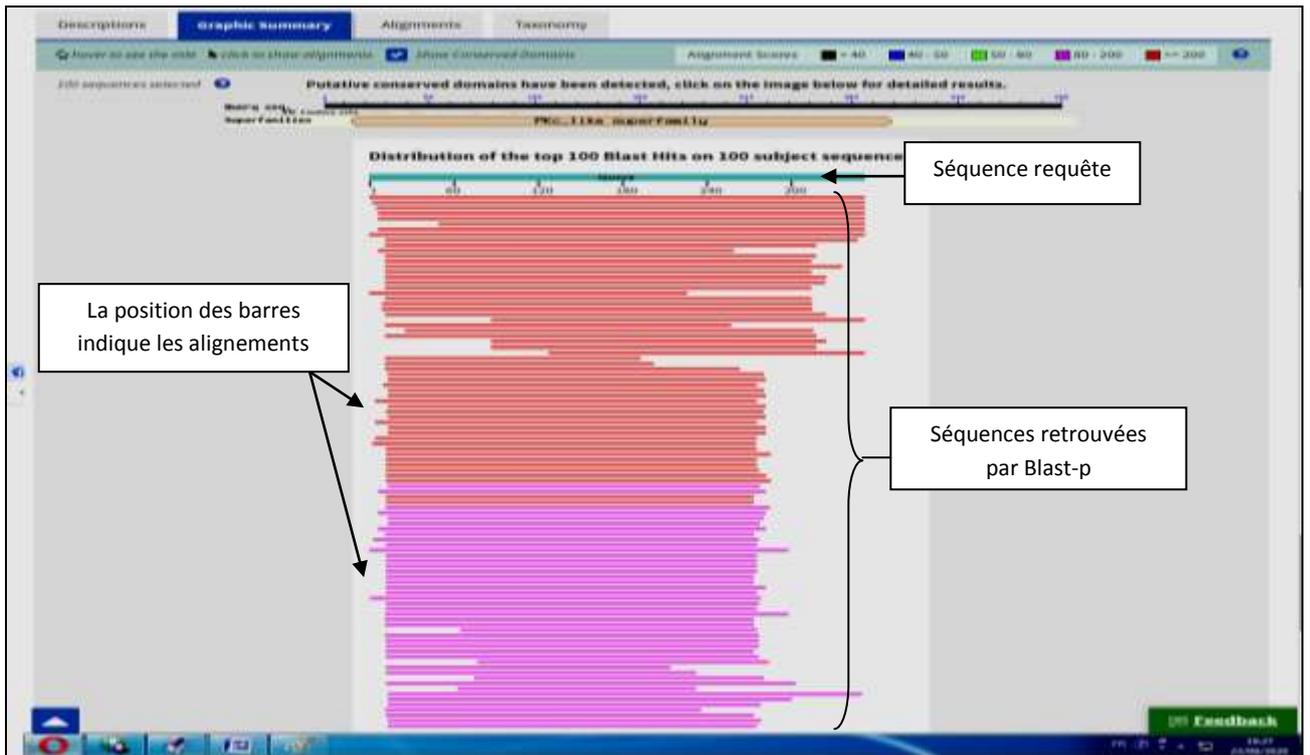


Figure 14.- Résultats graphique du BLAST de la protéine «abscisic acid activated protein kinase» (AAF27340.1) de *Vicia faba* en comparaison avec *Medicago truncatula*

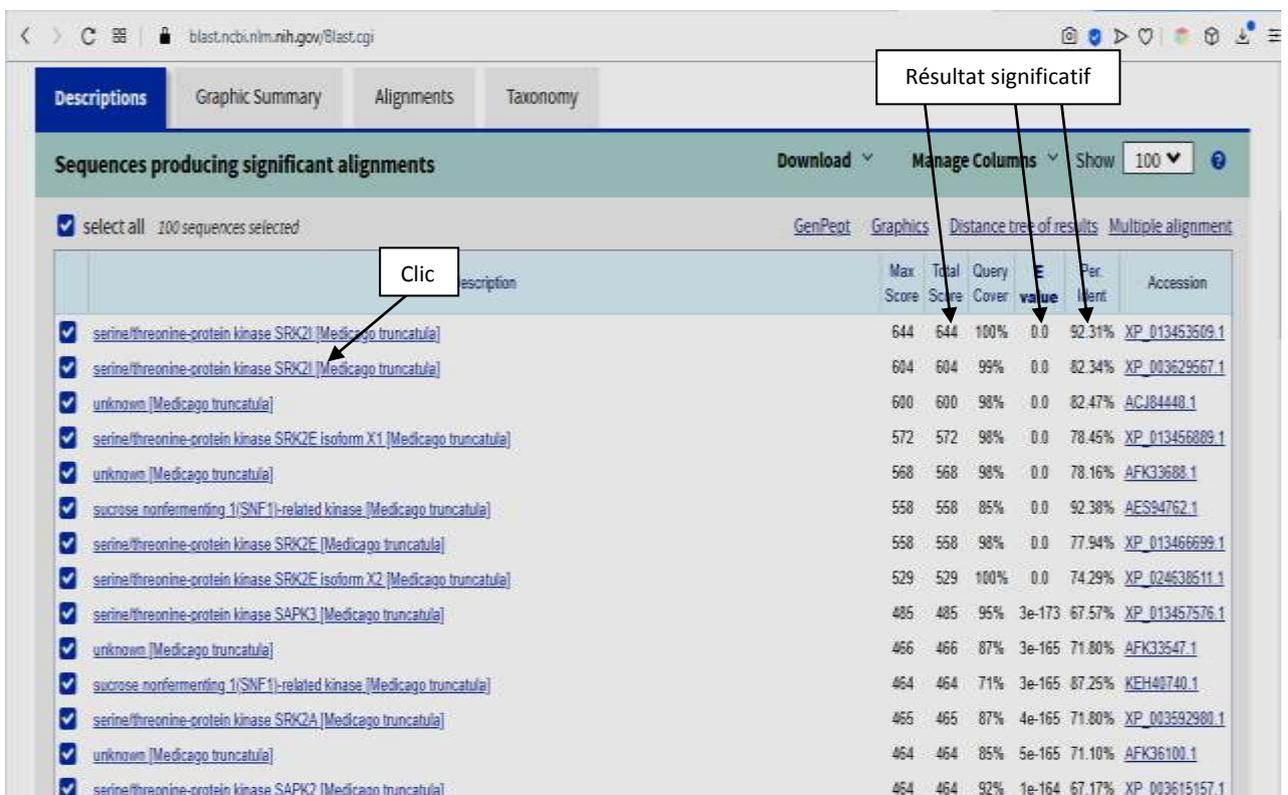


Figure 15.- Résultats des séquences protéiques similaires obtenus chez *Medicago truncatula*

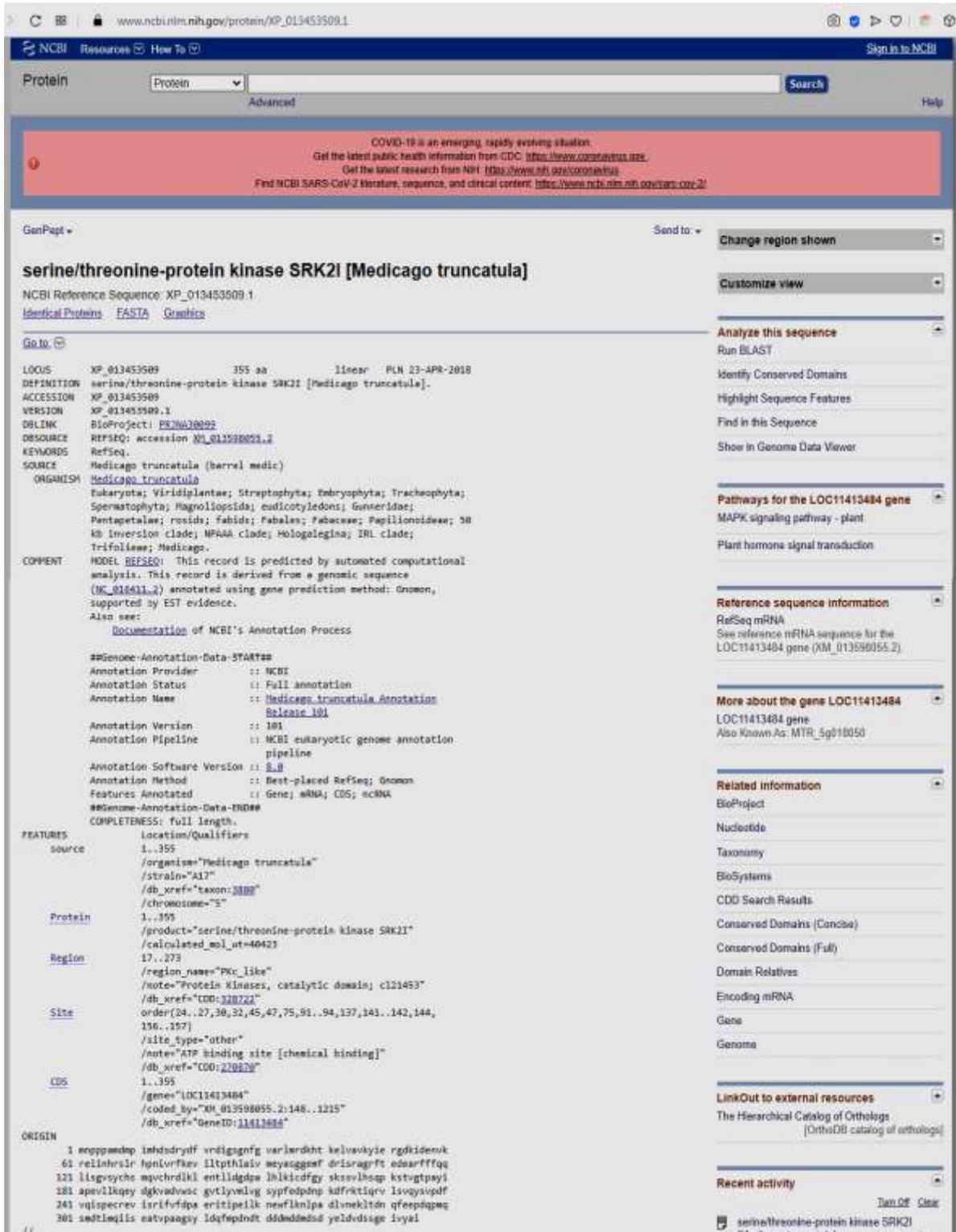


Figure 16.- Bio-information sur la protéine «serine/ threonine protein kinase» SRK2I chez *Medicago truncatula*

2.3.- Identification du gène codant la protéine kinase chez *Medicago truncatula*

Les résultats présentés sur la figure 17 décrivent la bioinformation du gène codant la protéine kinase SRK2I (XP013453509) chez *Medicago truncatula*. Le gène SRK2I (LOC11413484) codant cette protéine chez *Medicago truncatula*, est localisé sur le

chromosome 5 (exon 9).

The screenshot displays the NCBI Gene database entry for LOC11413484. The gene is identified as serine/threonine-protein kinase SRK2I in *Medicago truncatula* (barrel medic). The gene ID is 11413484, updated on 2-Jun-2019. The summary section includes the gene symbol, description, locus tag (MTR_5g118050), gene type (protein coding), RefSeq status (MODEL), and lineage (Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta; Spermatophyta; Magnoliopsida; eudicotyledons; Gunneridae; Pentapatales; rosids; fabids; Fabales; Fabaceae; Papilionoideae; 5f kb inversion clade; NPAAA clade; Hologalegina; IRL clade; Trifloeeae; Medicago). The genomic context shows the location on chromosome 5 with an exon count of 9. A table lists the annotation release (101), status (current), assembly (MediA17_4.1 (GCF_000219495.3)), chromosome (5), and location (NC_016411.2 (6708196..6712966)). Below the table is a genomic map of chromosome 5 (NC_016411.2) showing the location of LOC11413484 and its neighbors: LOC11292788, LOC11292791, LOC11413484, LOC11413483, and LOC11413476. The map also shows the coordinates [6698149] and [6708196].

Figure 17.- Bio-informations du gène codant la protéine kinase SRK2I (LOC11413484) chez *Medicago truncatula*

2.4.- Synthèse des résultats sur l'identification des gènes et des protéines de stress salin

Le tableau I montre les différentes protéines identifiées en relation avec le stress salin, ainsi que leurs gènes codants chez la légumineuse *Vicia faba* en comparaison avec les deux espèces modèles *Medicago truncatula* et *Arabidopsis thaliana*.

Tableau I.- Résultats généraux de la recherche *in silico* des gènes et des protéines chez la fève (*Vicia faba*) induits par le stress salin.

Stress abiotique	Organisme	Gène codant	Protéine encodée
Stress salin	<i>Vicia faba</i> L.	AAF27340 (voir ci-dessous les informations sur le gène AAF27340 et sa séquence génique)	Abscisic acid activated protein kinase (protéine similaire à SRK2E d' <i>Arabidopsis thaliana</i>)
	<i>Medicago truncatula</i> (Espèce modèle)	LOC11413484	Serine / threonine protein kinase (SRK2I)
	<i>Arabidopsis thaliana</i> (Espèce modèle)	SRK2E	Serine / thréonine protéine kinase (SRK2E)

La figure 18 décrit la bioinformation du gène codant la protéine «Abscisic acid activated protéine kinase» chez *Vicia faba* L.

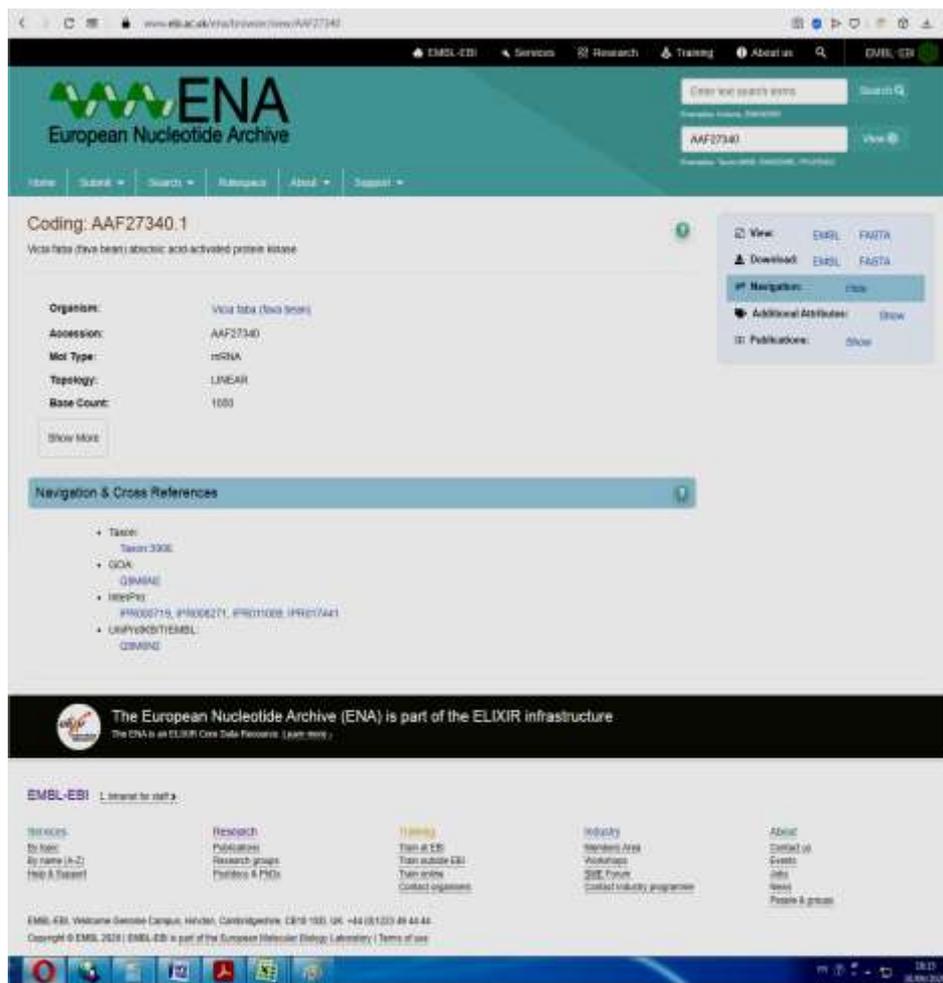


Figure 18.- Bioinformation du gène AAF27340 codant la protéine «Abscisic acid activated protéine kinase»

La séquence génique codante de la protéine kinase activée par l'acide abscissique «abscisic acid-activated protein kinase» chez *Vicia faba* L. est la suivante:

>ENA|AAF27340|AAF27340.1 *Vicia faba* (faba bean) abscisic acid-activated protein kinase

```
ATGGATATGCCGCCGCCGATCATGCACGACAGTGACCGTTACGACTTCGTTTCGTGATATC
GGATCGGGAAATTTTCGGCGTCGCTAGACTCATGACTGATAAACTCACCAAAGACCTTGTT
GCTGTCAAGTACATCGAACGTGGAGATAAGATTGATGAAAATGTTAAGAGAGAAATAATC
AATCACAGGTCTCTAAGACATCCTAATATTGTTAGGTTTAAGGAGGTCATTTTAACACCT
ACTCATCTGGCCATTGTAATGGAATATGCATCTGGAGGAGAAATGTCCGATCGAATCAGC
AAAGCGGGGCGTTTTACTGAGGATGAGGCTCGTTTTCTTTCAACAACCTCATATCCGGG
GTCAGCTATTGTCATTCAATGCAAGTATGTCATCGAGATCTGAAGTTGGAAAACACGTTG
TTGGATGGAGACCCAGCACTTCATCTGAAGATTTGTGATTTTGGATACTCCAAATCTTCG
GTGCTTCATTACAGCCAAAGTCAACTGTGGGAACTCCTGCTTATATTGCTCCAGAAGTA
CTTCTGAAGCAAGAGTATGATGGAAAGATTGCCGATGTCTGGTCATGTGGTGTAAACCTTA
TACGTGATGCTAGTGGGGTCATATCCTTTTGAAGATCCCGATAATCCGAAGGATTTCCGG
AAGACAATTCAGAGGGTTCTCAGTGTCCAGTATCCGTACCAGACTTTGTTCAAATATCT
CCTGAATGTCGCGACATTATATCAAGAATCTTTGTTTTTGACCTGCAGAGAGAATCACC
ATTCCAGAAATAATGAAGAACGAATGGTTCCGAAAGAATCTTCTGCTGACTTGGTGAAT
GAAAATATAATGGATAACCAATTTGAAGGCCAGATCAGCCTATGCAGAGTATGGATACG
ATCATGCAGATAATTTTCAGAAGCTACCGTACCAGCAGCTGGGAGCTATTATTTGACGAG
TTTATCGAAGTGGATGAAGATATGGATGAAATAGACTCTGACTATGAACTTGATGTAGAT
AGCAGTGGTGAGATTGTATATGCCATATAA
```

3.- Discussion

L'analyse *in silico* que nous avons mené tout au long de ce travail sur la recherche des protéines et des gènes de tolérance au stress salin chez *Vicia faba* L. via les bases de données NCBI, EMBL-EBI et UniProt, a permis d'obtenir des informations assez intéressantes chez cette légumineuse, en comparaison avec les deux espèces modèles *Arabidopsis thaliana* et *Medicago truncatula*. Les résultats de recherche ont permis d'identifier des protéines en relation avec le stress salin ainsi que leurs gènes codants. Parmi ces protéines identifiées, on cite: La protéine sérine/ thréonine Kinase SRK2 d'*Arabidopsis thaliana* induite par le stress salin. Certains travaux ont montré l'implication de cette protéine dans la tolérance aux stress abiotiques chez *Arabidopsis thaliana* et le riz dont leurs génomes ont été séquencés et annoté, ce qui a permis de mieux définir les sous familles des protéines kinases SnRK2 dans ces deux espèces [10]. Ainsi la protéine OSTI/SRK2E/SNRK2-6 a été décrite comme un régulateur positif crucial de la transduction du signal de l'hormone de stress l'acide abscissique (ABA) dans les cellules de garde d'*Arabidopsis thaliana* [11]. Les SNRK2 ont été classées en trois groupes: le groupe 1 comprend des kinases non activées par l'ABA, le groupe 2 comprend des kinases non activées ou activées très faiblement par l'ABA et le groupe 3 comprend des kinases fortement activées par l'ABA [12]. Li et Assmann [13] en (1966), ont caractérisé une sérine/ thréonine kinase activée fortement par l'ABA indépendamment du calcium dans les cellules de garde de *Vicia faba*, ce qui prouve le rôle important que joue cette protéine kinase. Dans notre étude la recherche de similitude entre les séquences de cette protéine kinase «sérine/ thréonine kinase SRK2E» après alignement en utilisant l'outil BLASTp-NCBI chez *Vicia faba*, a permis d'identifier une nouvelle protéine kinase activée par l'ABA nommée «abscisic acid activated protein kinase d'*Arabidopsis thaliana*» avec une similitude de séquence significative (identité de 78 % et un E-value = 0). En parallèle, la recherche des séquences protéiques similaires à la protéine kinase activée par l'ABA

«abscisic acid activated protéine kinase» en comparaison avec la légumineuse modèle *Medicago truncatula*, a donné des résultats assez significatifs, une similitude de séquence avec la protéine kinase SRK2I de *Medicago truncatula* (E-value = 0, identité 92 %). Un résultat assez significatif pour prédire une similarité de fonction entre ces deux protéines. Cette kinase appartient au troisième groupe des kinases fortement activées par l'ABA [12]. NAKASHIMA *et al.* (2009) ont montré que ce type de protéines sont impliquées non seulement dans la signalisation de l'ABA mais aussi au contrôle du développement et de la dormance des semences qui sont codées par des gènes spécifiques [14]. On a trouvé que chez *Vicia faba* L., ce type de protéine kinase est codé par le gène AAF27340.

Conclusion

Dans le présent travail, nous avons utilisé l'approche *in silico* en utilisant des outils bioinformatiques disponibles dans le web, et ceci dans le but d'identifier et de prédire la fonction des protéines et leurs gènes codants qui ont une relation avec la tolérance au stress salin chez l'espèce *Vicia faba* L. Grâce à cette approche, nous avons pu identifier les différents types de protéines kinases ainsi que leurs gènes codants en relation avec le stress salin, par rapport aux deux autres plantes modèles (*Arabidopsis thaliana* et *Medicago truncatula*) en recherchant des similarités de fonction entre séquences existantes dans les bases de données. Il s'est avérée que la protéine kinase activée par l'ABA «Abscisic acid activated protein kinase» identifiée chez *Vicia faba* est similaire aux kinases de type SRK «Serine/ threonine protein kinase» trouvées chez les deux espèces modèles étudiées, ces derniers ont un rôle important dans la transduction des signaux au cours du stress salin, ceci permet de mieux comprendre les mécanismes moléculaires intervenant durant ce stress abiotique.

Références

- [1].- Gallais A., 2015.- Comprendre l'amélioration des plantes. Enjeux, méthodes, objectifs et critères de sélection. Quae, Versailles, 240 p.
- [2].- Claverie J. M., Audic S., et Abergel C., 1999.- La Bioinformatique: une discipline stratégique pour l'analyse et la valorisation des génomes. Conference Proceeding: Rencontres de Luminy.
- [3].- Céline B. A., 2012.- Introduction à la bioinformatique. Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive (UMR 5558), Université Claude Bernard, Lyon1.
- [4].- Voisin A. S., Guéguen J., Huyghe C., Jeuffroy M. H., Magrini M. B, 2013.- Les légumineuses dans l'Europe du XXI^{ème} siècle: Quelle place dans les systèmes agricoles et alimentaires actuels et futurs? Quels nouveaux défis pour la recherche? Innovations Agronomiques, INRAE,30: 283-312. hal-01005055v1
- [5].- Amouri A.A. (2015). Effect of Salinity Stress on Seedling Development of Different Ecotypes of the Model Legume *Medicago truncatula*. Asian Journal of Crop Science, 7: 154-159.
- [6].- Duponnois R., Plenchette C., Prin, Y., Ducouso M., Kisa, M., Bâ A.M., Galiana A., 2007.- Use of mycorrhizal inoculation to improve reforestation process with Australian *Acacia* in Sahelian ecozones. Ecological engineering, 29: 105-112.

- [7].- Duc G., Bao S. Y., Baum M., Redden B., Sadiki M., Suso M. J., Vishniakova M., Zong X. X., 2010.- Diversity maintenance and use of *Vicia faba* L. genetic resources. *Field Crops Research* 115: 270-278.
- [8].- Young N., Debelle F., Oldroyd G., 2011.- The *Medicago* genome provides insight into the evolution of rhizobial symbioses. *Nature* 480: 520–524. <https://doi.org/10.1038/nature10625>
- [9].- Bevan M and Sean W., 2005.- The *Arabidopsis* genome: A foundation for plant research. *Genome Research*. 15: 1632-1642. DOI: 10.1101/gr.3723405
- [10].- The *Arabidopsis* Genome Initiative, 2000.- Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature*, 408: 796-815.
- [11].- Jiaxu Li., Xi-Qing W., Mark B. W., Sarah M. A., 2000.- Regulation of Abscisic Acid-Induced Stomatal Closure and Anion Channels by Guard Cell AAPK Kinases. Department of Biology, The Pennsylvania State University, 208 Mueller Laboratory, University Park, PA 16802, USA. *Science* 14 Jan 2000, 287 (5451): 300-303.
- [12].- Kulik A, Wawer I, Krzywińska E, Bucholc M, Dobrowolska G., 2011.- SnRK2 protein kinases key regulators of plant response to abiotic stresses. *OMICS* 15: 859–872
- [13].- Li, J., and Assmann, S.M. (1996). An abscisic acid-activated and calcium-independent protein kinase from guard cells of fava bean. *Plant Cell* 8 2359–2368
- [14].- Nakashima K, Fujita Y, Kanamori N, Katagiri T, Umezawa T, Kidokoro S, et al., 2009.- Three *Arabidopsis* SnRK2 protein kinases, SRK2D/SnRK2.2, SRK2E/SnRK2.6/OST1 and SRK2I/SnRK2.3, involved in ABA signaling are essential for the control of seed development and dormancy, *Plant Cell Physiol.*, 50: 1345-1363.