

AtRBOHF	-----MKPPFSKNDR----PRWSFDSV	17
EsRBOHF	MKMRGNNSNDHELGILRGANSDTNSDTEIASRQAFSGELGRKRASKKRNARFADLPL	60
AtRBOHD	--MRRGNSTGTDHELGILRGANSDTNSINESIASDRTAFSGELGRKRASKRNARFAENLP	58
EsRBOHD	* : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * :	
AtRBOHF	SAGKTAGVGSASTSPGTEYSING-DQFPEVETVTIDLODDNTIVLRSVEPATANIVGDISD	76
EsRBOHF	SAGRTAVGSASSPCTCSNNGGGYGEETVETIDLODDNTIVLRSVEPATANIVGDISD-EI	76
AtRBOHD	--SVAGG--SVAGG--SVAGG--SVAGG--SVAGG--SVAGG--SVAGG--SVAGG--SVAGG-	95
EsRBOHD	RSRN--SVSGGGGGGGRRGRGGEDDEYEVETLTDTRDSDVASHVSQ-----Q	101
AtRBOHF	* : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : *	
AtRBOHF	NTGIMTPVSIISRSPMTMRSSNRLPQFSQLKEAVALAKQLSQELEKRFSSWSSRSGNLN	136
EsRBOHF	AVGGGGSASISRSPTMRSSNRLPQFSQLKEAVALAKQLSQELEKRFSSWSSRSGNLN	136
AtRBOHD	AAGGGG--HELEPPELTLTTKTTLES-----SL-----NNNTSLSLFPRSTSRRIK	137
EsRBOHD	AAGGGGGAAQHLEPPELTLTTKTTLES-----SL-----NNNTSLSLFPRSTSRRIK	146
AtRBOHF	* : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : *	
AtRBOHF	TTSTAANQSGGAGGLVLNSALEARALKRQALDRPRTSSAQARLGRFLFISNQXKNVDW	196
EsRBOHF	A---ANQNGGGGGGLVLNSALEARALKRQALDRPRTSSAQARLGRFLFISNQXKNVDW	193
AtRBOHD	NASR--E-R--RVEFRRSPFAPVRFPRTSAAHALKGLIATK---TAAM	182
EsRBOHD	NBSR--E-R--RVEFRRSPFAPVRFPRTSAAHALKGLIATK---TAAM	191
AtRBOHF	* : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : *	
AtRBOHF	NDVQSNFEKF--KNGYIYRSDFAQCIGMK--DSRFAPELFLDALSRRLRKEVER	253
EsRBOHF	NHIVQSNFEKL--KNGYIYRSDFAQCIGMK--DSRFAPELFLDALSRRLRKEVER	250
AtRBOHD	FAVDQRDKLSDLNSNGLLSAKFWECIGMNKESDFAFDGLRALARNNVSGDPTKEO	242
EsRBOHD	FAVDERDKLSDLNSNGLLSAKFWECIGMNKESDFAFDGLRALARNNVSGDPTKEO	251
AtRBOHF	* : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : *	
AtRBOHF	YEYWSQINDEFSESRLOIIFDVKRNEDGRITEEVEKIEIMLSASANKLSRLKEAKEYTA	313
EsRBOHF	YEYWSQINDEFSESRLOIIFDVKRNEDGRITEEVEKIEIMLSASANKLSRLKEAKEYTA	310
AtRBOHD	RIFWEQSIDSEFARLARLQVFFDMVDRKEDGVRTEEEVAFIAISLSASANKLSNLICKAEKEYA	302
EsRBOHD	RIFWEQSIDSEFARLARLQVFFDMVDRKEDGVRTEEEVAFIAISLSASANKLSNLICKAEKEYA	311
AtRBOHF	* : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : *	
AtRBOHF	ALIMEELDFPERLGYIELWQLETFILLQKDTYIYLNSQALSYTSQALSQNLJGLRKSRIRHM	373
EsRBOHF	ALIMEELDFPERLGYIELWQLETFILLQKDTYIYLNSQALSYTSQALSQNLJGLRKSRIRHM	370
AtRBOHD	ALIMEELDFDNGAFTMTENLEMMLLCAPNQSYSTRMGDSRILSQQMSLQIRPAKESNEFLRW	362
EsRBOHD	ALIMEELDFDNGAFTMTENLEMMLLCAPNQSYSTRMGDSRILSQQMSLQIRPAKESNEFLRW	371
AtRBOHF	* : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : *	
AtRBOHF	SSDCVYFVQENWRWLRWLSSLWIMIMIHLGLFWLRFPPQYKQKDAFHVMVGCLLTARGAETIK	433
EsRBOHF	SSDCVYFVQENWRWLRWLSSLWIMIMIHLGLFWLRFPPQYKQKDAFHVMVGCLLTARGAETIK	430
AtRBOHD	SEKIKYFLIDNWLWIMMLWIGICCGGLFTYFYF1QYFNKAAYGVGMGCVCVARGGAETIK	422
EsRBOHD	SEKIKYFLIDNWLWIMMLWIGICCGGLFTYFYF1QYFNKAAYGVGMGCVCVARGGAETIK	431
AtRBOHF	* : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : *	
AtRBOHF	FNMALILLFVVCRNTITWLRS--TRLSYFVPEPDININFHKTIAGAIVAVVILHICDMLACDF	492
EsRBOHF	FNMALILLFVVCRNTITWLRS--TRLSYFVPEPDININFHKTIAGAIVAVVILHVGODHLCDF	489
AtRBOHD	FNMALILLFVVCRNTITWLRLNKTTLKGTVVPPEDSISINFHVTIA84IVVPGVLLHAGAHLCDF	482
EsRBOHD	FNMALILLFVVCRNTITWLRLNKTTLKGTVVPPEDSISINFHVTIA84IVVPGVLLHAGAHLCDF	491
AtRBOHF	* : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : *	
AtRBOHF	FRVRADEYDUNRNYIHYFOPKOPTYFDLWVKGPFEPGTRGILANWILMIIISFTLARTRWFRNL	552
EsRBOHF	FRVRADEYDUNRNYIHYFOPKOPTYFDLWVKGPFEPGTRGILANMIIISFTLARTRWFRNL	549
AtRBOHD	FRVLAIAADEDTYEF-MEKYFGDQPTSYIWVFVKGVEGWTGIVMVVLMALIAFTTLAZTFWFRRNK	541
EsRBOHD	FRVLAIAADEDTYEF-MEKYFGDQPTSYIWVFVKGVEGWTGIVMVVLMALIAFTTLAZTFWFRRNK	550
AtRBOHF	* : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : *	
AtRBOHF	VRLPKPFDRLDLGENNAWYSSHLLFIVYVLLLHLNQIPELPARPWVIRTMMLVANPVLLY	612
EsRBOHF	VRLPKPFDRLDLGENNAWYSSHLLFIVYVLLLHLNQIPELPARPWVIRTMMLVANPVLLY	609
AtRBOHD	INLNPLMFLKKLTLGENNAWYSSHLLFIVYVLLLHLNQIPELPARPWVIRTMMLVANPVLLY	601
EsRBOHD	INLNPLMFLKKLTLGENNAWYSSHLLFIVYVLLLHLNQIPELPARPWVIRTMMLVANPVLLY	610
AtRBOHF	* : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : *	
AtRBOHF	FAD-binding domain	
AtRBOHF	GERPILRYPRSGGSVSYVBLRVAIYPGNVLJLQMSRPTQPFYKQSGQMPVQCPAVSPPEWHP	672
EsRBOHF	GERPILRYPRSGGSVSYVBLRVAIYPGNVLJLQMSRPTQPFYKQSGQMPVQCPAVSPPEWHP	669
AtRBOHD	SERLIRAFRSSIIPKVYKMRVAVYPGNVLJLQMSRPTQPFYKQSGQMPVQCPAVSPPEWHP	661
EsRBOHD	SERLIRAFRSSIIPKVYKMRVAVYPGNVLJLQMSRPTQPFYKQSGQMPVQCPAVSPPEWHP	670
AtRBOHF	* : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : *	
AtRBOHF	PSITSAPEDDYISIIRQLGQWQCELRKRVSEVECPVPGKGSSLRADETT--KSLPKL	731
EsRBOHF	PSITSAPEDDYISIIRQLGQWQCELRKRVSEVECPVPGKGSSLRADETT--KSLPKL	728
AtRBOHD	PSITSAPGDYLVISIIRQLGQWTRKLRLVSEVCKPZAGKSSLRADGDGNGLPFKVL	721
EsRBOHD	PSITSAPGDYLVISIIRQLGQWTRKLRLVSEVCKPZAGKSSLRADGDGNGLPFKVL	729
AtRBOHF	* : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : *	
AtRBOHF	Ferric reductase NAD binding domain	
AtRBOHF	IDGPFYGAPAQDQYKRDVWLLVGLGIGAPTPISILKLDLNNNIKMEHEADSIISDFSRSSYEY	791
EsRBOHF	IDGPFYGAPAQDQYKRDVWLLVGLGIGAPTPISILKLDLNNNIKMEHEADSIISDFSRSSYEY	788
AtRBOHD	IDGPFYGAPAQDQYKRDVWLLVGLGIGAPTPISILKLDLNNNIKMEHEADSIISDFSRSSYEY	772
EsRBOHD	IDGPFYGAPAQDQYKRDVWLLVGLGIGAPTPISILKLDLNNNIKMEHEADSIISDFSRSSYEY	779
AtRBOHF	* : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : *	
AtRBOHF	STGSGNG--DTFRKKRKEKLTQNAFVYVTREQGSDFWFKGVMNEVAELDQRGVIEMHNYLT	849
EsRBOHF	STGSGNSDNNTRFRKKRKEKLTQNAFVYVTREQGSDFWFKGVMNEVAELDQRGVIEMHNYLT	848
AtRBOHD	-----NNNSNNNSRGFKTRKRAYFYVWTREQGSFWRKGIMDEISLDEEGIIELHNHYC	826
EsRBOHD	-----NTNSNGNSGEGFKTRKRAYFYVWTREQGSFWRKGIMDEVSLEDEEGVIELHNHYC	833
AtRBOHF	* : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : *	
AtRBOHF	SVYEDGARDASALITMVQALNHAHRNGDIVS>TRVRHFPAPNWKKVLTLLSHCNARIG	909
EsRBOHF	SVYEEGDARDASALITMVQALNHAHRNGDIVS>TRVRHFPAPNWKKVLTLLSHCNARIG	908
AtRBOHD	SVYEEGDARDASALITMVQALNHAHRNGDIVS>TRVRHFPAPNWKKVLTLLSHCNARIG	886
EsRBOHD	SVYEEGDARDASALITMVQALNHAHRNGDIVS>TRVRHFPAPNWKKVLTLLSHCNARIG	893
AtRBOHF	* : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : *	
AtRBOHF	VFYCGVFPVILGELSRLCNFTNQKGSTKEPHHEIF	944
EsRBOHF	VFYCGVFPVILGELSRLCNFTNQKGSTKEPHHEIF	943
AtRBOHD	VFYCGMPGMIXELRNKMLALDFBRTTTFKDFPHHEIF	921
EsRBOHD	VFYCGMPGMIXELRNKMLALDFBRTTTFKDFPHHEIF	928
AtRBOHF	* : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : * : *	

Fig. S1. The multiple alignment of RBOHD and RBOHF amino acids in *Arabidopsis thaliana* and *Eutrema salsugineum* constructed using EMBL-EBI Clustal OMEGA tool (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>). (*) indicate full conservation among all sequences, (:) highly conservative exchanges and (.) conservative exchanges of amino acids. The black color highlights the Respiratory burst NADPH oxidase domain (PF08414). The FAD-binding domain (PF08022) is indicated with a straight line above the alignment. The grey color marks Ferric reductase NAD binding domain (PF08030) and the box identifies calcium binding motif (cd00051). The conserved motifs were identified using NCBI Batch CD-Search online tool (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi>).

Table S1. Selected parameters of tap water used for irrigation according to the information provided by the Kraków waterworks (Wodociągi Miasta Krakowa S.A.) at website <https://en.wodociagi.krakow.pl/>.

pH	7,6
NH ₄ ⁺	0,017 mg/dm ³
NO ₂ ⁻	< 0,01 mg/dm ³
NO ₃ ⁻	15,6 mg/dm ³
Cl ⁻	39,7 mg/dm ³
Ca	96 mg/dm ³
Mg	12 mg/dm ³
Fe	< 0,025 mg/dm ³
Cu	< 0,003 mg/dm ³
Cr	< 0,002 mg/dm ³
Cd	< 0,00045 mg/dm ³
Chloroform	< 0,3 µg/dm ³

Table S2. PCR primers used for quantitative RT-PCR.

Gene name	Gene reference	5' – 3' primer sequence	Product size (bp)	Amplific. Efficiency (%)
<i>AtRBOHD</i>	At5g47910	GGTTAAGATGATCAAGGTGGCT TCCTTGTGGCTTCGTATGT	70	100
<i>AtRBOHF</i>	At1g64060	ACGGGGTGTGATAGAGATGC GCAAAGTGTGTTCTGACCCT	150	104
<i>AtAT5G</i>	At5g13440	CTTCCCCGTGACCATAACCCT AGCAAAACCTCTTATAACGCTCC	120	100
<i>EsRBOHD</i>	Thhalv10003619m	CACTTCGCCAACCCAACTG GAAGACTCCGATTGTTGCC	78	99
<i>EsRBOHF</i>	Thhalv10023240m	ATGGAAGAGCAAGCGGATTG GCCTTGTCTCTGTGACCC	147	100
<i>EsAPT1</i>	Thhalv10008627m	GTCCGACTACTTGAGCGAGT CCCTCCCTTACACTCTGGT	79	100