

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

**Μεταπτυχιακή Διατριβή**  
**Μεταπτυχιακός Φοιτητής: Πανάγος Ρίζος**

**«Μοριακή ανάλυση, γενετική ταυτοποίηση και πιστοποίηση  
ποικιλιών ντομάτας»**

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: Ι. ΓΟΥΝΑΡΗΣ**

**ΒΟΛΟΣ 2007**

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

**Εξεταστική Επιτροπή**

**Ι. ΓΟΥΝΑΡΗΣ (Επιβλέπων)**

Αναπληρωτής καθηγητής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**Α. ΜΑΥΡΟΜΑΤΗΣ (Μέλος)**

Λέκτορας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**ΙΜΠΡΑΧΙΜ-ΑΒΡΑΑΜ ΧΑ (Μέλος)**

Επίκουρος Καθηγητής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

## Ευχαριστίες

Ευχαριστώ θερμά τον Αναπληρωτή Καθηγητή Μοριακής Βιολογίας Φυτών με Εφαρμογές στη Γεωργία του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ. Γούναρη, επιβλέποντα στην μεταπτυχιακή μου διατριβή για τις διορθώσεις και παρατηρήσεις του επί της εργασίας μου και την εμπιστοσύνη που έδειξε προς το πρόσωπό μου καθώς και για τις χρήσιμες υποδείξεις του.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Αθανάσιο Μαυρομάτη Λέκτορα και τον κ. Ι.Α. Χα, Επίκουρο Καθηγητή Κηπευτικών Καλλιεργειών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για τις εύστοχες υποδείξεις τους.

## Περιεχόμενα

Ευχαριστίες .....	3
Περιεχόμενα .....	4
1. Εισαγωγή .....	5
1.1 Μορφολογικά χαρακτηριστικά .....	6
1.2 Σημαντικά γεγονότα στην καλλιέργεια της τομάτας .....	9
1.3 Η καλλιέργεια της τομάτας ανά τον κόσμο .....	10
1.3 Η καλλιέργεια της τομάτας στην Ελλάδα .....	12
1.4 Η καλλιέργεια της τομάτας .....	13
1.4.1 Καλλιεργητική τεχνική .....	13
1.4.2 Ποικιλίες τομάτας .....	17
1.4.3 Είδη τομάτας .....	18
1.4.4 Ασθένειες-Παθογόνα .....	18
1.4.5 Η βελτίωση της τομάτας .....	19
1.4.7 Χαρακτηριστικά ποιότητας προς βελτίωση .....	23
1.5 Μοριακοί δείκτες στην βελτίωση των φυτών .....	24
1.5.1 Τύποι μοριακών δεικτών .....	24
1.5.2 Τεχνικές μη βασιζόμενες στην PCR .....	25
1.5.3 PCR τεχνικές (με τυχαίο εκκινητή) .....	25
1.5.3.1 Διαδικασία προσέγγισης .....	25
1.5.3.2 Μοριακοί δείκτες τύπου RAPD .....	27
1.5.4 Μοριακή στατιστική ανάλυση .....	29
2. Υλικά και Μέθοδοι .....	34
2.1 Γενετικό Υλικό .....	34
2.2 Αξιολόγηση γενοτύπων με την βοήθεια μοριακών δεικτών .....	34
2.2.1 Απομόνωση DNA .....	34
2.2.2 Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός DNA .....	39
2.2.3 Μοριακή γενετική ανάλυση με δείκτες RAPD's .....	39
3. Αποτελέσματα και Συζήτηση .....	43
3.1 Αποτελέσματα μοριακών αναλύσεων .....	43
4. Συμπεράσματα .....	51
Βιβλιογραφία .....	52
Παράρτημα .....	57

# 1. Εισαγωγή

Η τομάτα αποτελεί ένα από τα πιο διαδεδομένα λαχανικά. Η καλλιέργειά της στην Ελλάδα καταλαμβάνει τη δεύτερη θέση, μετά την πατάτα. Διεθνώς, καταλαμβάνει την τρίτη θέση μετά την πατάτα και τη γλυκοπατάτα. Η διάδοσή της οφείλεται στο ελκυστικό χρώμα και άρωμά της και το γεγονός ότι εφοδιάζει τον οργανισμό με βιταμίνες και κυρίως με βιταμίνη C.

Οι τομάτες κατάγονται από τη Νότια Αμερική (κυρίως από το Περού) και εξημερώθηκαν στο Μεξικό. Εισήχθησαν στην Ευρώπη από τους Ισπανούς περί το 1500 και αντιμετώπιστηκαν, αρχικός, με δυσπιστία, καθώς οι καρποί τους θεωρούνταν δηλητηριώδεις. Ακόμα και το 1800 οι κάτοικοι της Ανατολικής Ευρώπης απέφευγαν την κατανάλωση τομάτας, ενώ στην Ισπανία ήταν το πιο ευρείας κατανάλωσης λαχανικό. Τα δέκα περίπου είδη του *Lycopersicon* είναι γηγενή στις δυτικές ακτές της Νότιας Αμερικής από το Εκουαδόρ ως τη Χιλή, ενώ εμφανίζεται και στα νησιά Γκαλαπάγκος. Αναπτύσσονται σε περιβάλλον ερήμου, με περιστασιακές βροχοπτώσεις και όπου οι μόνες σταθερές πηγές υγρασίας είναι η δρόσος και η ομίχλη. Εμφανίζονται ως βραχείας ζωής πολυετή ή ως μονοετή φυτά. Οι τομάτες εξημερώθηκαν από την άγρια, μικρόκαρπη (κερασόμορφη, cherry tomato) *Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme* του Περού. Γίνεται φανερό ότι η εξημέρωση της τομάτας δεν έγινε στην περιοχή προέλευσής της, αλλά στο Μεξικό. Θεωρείται ότι με την εγκατάσταση γεωργικών εκτάσεων σ' αυτήν την περιοχή, σπόροι τομάτας μεταφέρθηκαν μαζί με σπόρους καλαμποκιού ή διασκορπίστηκαν από τα πτηνά και από τα άγρια φυτά τομάτας, με αποτέλεσμα οι Ινδιάνοι και οι Αζτέκοι να παράγουν τις εξημερωμένες ποικιλίες. Δεν είναι γνωστό το πότε συνέβη η εξημέρωσή της, το βέβαιο είναι ότι είχε ήδη γίνει το 1523, όταν οι Ισπανοί κατέκτησαν το Μεξικό. Η λέξη «tomato» προέρχεται

από την ισπανική λέξη «tomate», που έχει τις ρίζες της στη μεξικάνικη «tomati». Το 18<sup>ο</sup> αιώνα υπάρχουν οι πρώτες αναφορές για εμπορία τομάτας από τις μεσογειακές χώρες. Η έντονη επιφυλακτικότητα έναντι αυτής, οφείλεται στο ότι βοτανικά ανήκει στην οικογένεια των Σολανωδών (Solanaceae), τα μέλη της οποίας είναι γνωστό ότι περιέχουν (κυρίως στα φύλλα τους) το αλκαλοειδές σολανίνη, που είναι τοξικό στον άνθρωπο και τα ζώα. Τον κυριότερο όμως λόγο αποτέλεσε η μεγάλη ομοιότητα της τομάτας με το φυτό Άτροπος (*Atropos belladonna*) της ίδιας οικογένειας, που ήταν γνωστό από την αρχαιότητα για τις φαρμακευτικές και τις δηλητηριώδεις ιδιότητές του. Οι τοξικές ιδιότητές του οφείλονται στην παρουσία της ατροπίνης. Η τομάτα οφείλει την επιστημονική της ονομασία, *Lycopersicon esculentum* («εδώδιμο ροδάκινο του λύκου»), στο Λινναίο.

### **1.1 Μορφολογικά χαρακτηριστικά**

Στον τόπο καταγωγής της είναι πολυετές φυτό, αλλά στις εύκρατες ζώνες καλλιεργείται σαν ετήσιο, επειδή νεκρώνεται το χειμώνα. Οι καλλιεργούμενες ποικιλίες ανήκουν στις εξής κατηγορίες, από πλευράς βλαστικής ανάπτυξης:

- αναρριχώμενες, στις οποίες ο κεντρικός βλαστός μεγαλώνει διαρκώς και σχηματίζεται διαδοχικά μεγάλος αριθμός ταξιανθιών. Από μασχαλιαίους οφθαλμούς αναπτύσσονται βλαστοί 2<sup>ης</sup>, 3<sup>ης</sup> τάξης κλπ, που σχηματίζουν και αυτοί ταξιανθίες. Οι ποικιλίες αυτές συνήθως καλλιεργούνται για παραγωγή τομάτας νωπής κατανάλωσης, η οποία συγκομίζεται σε μεγάλο χρονικό διάστημα (σε πολλά χέρια).
- αυτοκλαδευόμενες, στις οποίες μετά από το σχηματισμό ορισμένου αριθμού ταξιανθιών (ανάλογα με την ποικιλία) σταματά η ανάπτυξη του κεντρικού βλαστού. Οι νάνες ποικιλίες έχουν μικρή βλαστική ανάπτυξη, μεγαλύτερο αριθμό καρπών ανά μονάδα φυλλικής επιφάνειας, η

ανθοφορία τους συνήθως ολοκληρώνεται σε λίγες εβδομάδες, καθώς και η καρπόδεση, με αποτέλεσμα η ωρίμανση να γίνεται μέσα σε μικρή σχετικά χρονική περίοδο, και γι' αυτό είναι κατάλληλες για μηχανική συγκομιδή (συγκομιδή σε ένα χέρι). Οι ποικιλίες αυτές χρησιμοποιούνται κατά κανόνα στην παραγωγή πρώτης ύλης για τη βιομηχανία.

Το φυτό της τομάτας αναπτύσσει ευδιάκριτη κεντρική **ρίζα**, αρκετές δευτερεύουσες, και ριζικά τριχίδια όταν ο σπόρος τοποθετείται απ' ευθείας στη μόνιμη θέση. Επειδή, συνήθως, στη θερμοκηπιακή καλλιέργεια το φυτό μεταφυτεύεται μία ή περισσότερες φορές, η κεντρική ρίζα κόβεται, καταστρέφεται και αυτό αρχίζει εύκολα να παράγει πολλές δευτερεύουσες πλευρικές ρίζες ακόμη και από το λαιμό, γεγονός που διευκολύνει τη μεταφύτευσή του ακόμη και με γυμνή ρίζα.

Ο κεντρικός βλαστός φέρει τα πραγματικά φύλλα, στις μασχάλες των οποίων υπάρχουν οφθαλμοί που δίνουν πλευρικούς βλαστούς. Πολλές φορές, οι πλευρικοί βλαστοί που βρίσκονται κοντά στην κορυφή του φυτού είναι τόσο ζωηροί, που με δυσκολία μπορεί κανείς να ξεχωρίσει ποιος είναι ο κεντρικός βλαστός και ποιος ο πλευρικός. Το σχήμα του βλαστού είναι κυλινδρικό και εσωτερικά είναι πλήρης.

Τα πραγματικά **φύλλα** της τομάτας είναι σύνθετα. Κάθε φύλλο αποτελείται από ζεύγη φυλλαρίων και παράφυλλων με ένα μόνο φυλλάριο στην άκρη. Ο αριθμός των ζευγών φυλλαρίων σε κάθε φύλλο ποικίλλει ανάλογα με την ποικιλία και τη θέση του φύλλου επί του βλαστού. Είναι δυνατόν να συναντηθούν ποικιλίες με 3, 4 ή 5 ζεύγη φυλλαρίων.

Τα άνθη της τομάτας είναι ερμαφρόδιτα, και κατά κανόνα αυτοεπικονιαζόμενα με ποσοστό σταυροεπικονίασης 0,5-5% και βρίσκονται τοποθετημένα σε ταξιανθία με 4-12 άνθη, από τα οποία συνήθως προκύπτουν 2-8 καρποί. Η πρώτη ταξιανθία σχηματίζεται μετά το 3<sup>ο</sup> ως το 5<sup>ο</sup> γόνατο και οι επόμενες

ακολουθούν κάθε 2-3 γόνατα. Οι ταξιανθίες εκφύονται στο χώρο των μεσογονατίων διαστημάτων.

Ο καρπός είναι ράγα με 2-25 καρπόφυλλα. Έχει χονδρό περικάρπιο, με λεπτή επιδερμίδα χωρίς στομάτια και με κηρώδη εφυμενίδα. Στα καρπόφυλλα υπάρχει ζελατινώδης πλακούντας, που περιβάλλει τους σπόρους. Το βάρος του καρπού είναι, συνήθως, στις βιομηχανικές ποικιλίες 60-120g και τις επιτραπέζιες 150-300g. Το σχήμα του είναι συνήθως στρογγυλό, επίμηκες ή απιδοειδές. Το χρώμα του καρπού είναι συνήθως κόκκινο, υπάρχουν όμως και ποικιλίες που έχουν χρώμα πορτοκαλί, κίτρινο, ροζ ή λευκό. Το κόκκινο χρώμα οφείλεται στο καροτενοειδές λυκοπένιο, ενώ το πορτοκαλί στο β-καροτένιο (προβιταμίνη Α). Σε μικρότερες ποσότητες υπάρχουν, επίσης, και άλλα καροτενοειδή και ξανθοφύλλες. Το λυκοπένιο δε χρειάζεται φως για να σχηματισθεί. Θερμοκρασίες άνω των 32° εμποδίζουν τη σύνθεση λυκοπενίου, όχι όμως του β-καροτενίου, γι' αυτό και όταν επικρατούν υψηλές θερμοκρασίες οι καρποί δεν έχουν βαθύ κόκκινο χρώμα αλλά πορτοκαλί.

Ο σπόρος είναι ωσειδής, πεπλατυσμένος, με χρώμα κίτρινο-καφέ και η επιφάνειά του καλύπτεται με τριχοειδείς αποφύσεις. Το μέγεθος των σπερμάτων είναι μικρό, διαμέτρου 3-5mm. Εσωτερικά ο σπόρος φέρει κυρτό έμβρυο που περιβάλλεται από ένα μικρό ενδοσπέρμιο. Αυτός διατηρεί υπό κανονικές συνθήκες αποθήκευσης τη βλαστικότητα του για 4 τουλάχιστον χρόνια μετά τη συγκομιδή του, εάν όμως αποθηκευτεί σε χαμηλή θερμοκρασία και με χαμηλή περιεκτικότητα των σπόρων σε υγρασία, εύκολα διατηρεί τη βλαστικότητά του για πάνω από 10 χρόνια. Ένα γραμμάριο σπόρου έχει 450 περίπου σπέρματα.





## ***1.2 Σημαντικά γεγονότα στην καλλιέργεια της τομάτας***

- **Η δημιουργία βελτιωμένων ποικιλιών.** Το 19<sup>ο</sup> αιώνα, αρχικά στην Ευρώπη και αργότερα στη Βόρεια Αμερική, έγιναν ουσιαστικές προσπάθειες και παρήχθησαν ποικιλίες τομάτας, με καρπούς διαφόρων σχημάτων, μεγεθών και χρωμάτων. Κάποιες από αυτές καλλιεργήθηκαν για πάνω από 100 έτη και άλλες καλλιεργούνται ακόμα και σήμερα. Ορισμένες αναφέρονται ως τομάτες «κειμήλια» (heirloom tomatoes). Η διατήρηση και η επιτυχία τους ευνοείται από το χαρακτηριστικό των ανθέων να αυτογονιμοποιούνται. Αυτό οδηγεί σε αύξηση της ομοζυγωτίας από γενιά σε γενιά και η ποικιλία αποκτά υψηλή σταθερότητα στα χαρακτηριστικά της.
- **Η παραγωγή υβριδίων.** Με τη διασταύρωση καθαρών (ομοζύγωτων) σειρών από τις καλλιεργούμενες ποικιλίες ή και από τις άγριες σειρές παρήχθησαν, στις αρχές του 20<sup>ου</sup> αιώνα, υβρίδια με υψηλό ποσοστό ετέρωσης. Αρχικά παρήχθησαν υβρίδια με επιθυμητό μέγεθος και ομοιομορφία καρπού, πολύ μεγαλύτερη απόδοση κλπ. Σε επόμενο στάδιο επιχειρήθηκε η ενσωμάτωση ανθεκτικότητας σε διάφορες ασθένειες.
- **Η καλλιέργεια της βιομηχανικής τομάτας.** Από το 1920 στις ανεπτυγμένες χώρες της Ευρώπης και της Αμερικής, αρχίζει η βιομηχανική επεξεργασία και η κονσερβοποίηση της τομάτας. Δημιουργούνται νέες ποικιλίες και υβρίδια για τη βιομηχανία και η τομάτα βρίσκει διαρκώς νέες χρήσεις.
- **Η αναγνώριση της διαιτητικής της αξίας.** Το ενδιαφέρον για την τομάτα αυξάνει περισσότερο χάρη στο λυκοπένιο που περιέχει. Αυτό είναι μια καροτενοειδής χρωστική, που προσδίδει το κόκκινο χρώμα στον καρπό. Επίσης, είναι ισχυρή αντιοξειδωτική ουσία που εξουδετερώνει ελεύθερες

ρίζες οξυγόνου, που συσσωρεύονται στα κύτταρα ενός οργανισμού και μπορεί να προκαλέσουν σοβαρές βλάβες λόγω στρεσαρίσματος. Το 85% του λυκοπενίου, που προσλαμβάνει ο άνθρωπος με τη διατροφή του, προέρχεται από την τομάτα.



### ***1.3 Η καλλιέργεια της τομάτας ανά τον κόσμο***

Παρόλο που η παραγωγή της τομάτας είναι μεγαλύτερη στο Νότο από ότι στο Βορρά, αυτή είναι ένα προϊόν που ελέγχεται από τις βόρειες χώρες. Το 1995 οι χώρες του Βορρά κατείχαν το 72% των εξαγωγών τομάτας και το 94% των εισαγωγών. Οι ΗΠΑ και η Ευρώπη είναι οι κύριοι έμποροι τομάτας. Η παραγωγή της έχει αυξηθεί κατά 12% μεταξύ των ετών 1990-1995.

<b>ΧΩΡΑ</b>	<b>ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΣΕ ΧΙΛ. ΤΟΝΟΥΣ</b>	<b>%</b>
Κίνα	12.832,440	15
ΗΠΑ	11.719,000	14
Τουρκία	7.250,000	9
Ιταλία	5.155,598	6
Αίγυπτος	5.034,197	6
Ινδία	4.800,000	6
Ισπανία	2.705,500	3
Βραζιλία	2.700,197	3
Ρωσία	1.407,000	2
Χιλή	1.264,244	1
<b>Σύνολο</b>	<b>54.868,176</b>	<b>65</b>

**Πίνακας 1.** Οι δέκα κύριες παραγωγικές χώρες σε τομάτα που αντιπροσωπεύουν το 65% της παγκόσμιας παραγωγής (Πηγή: GRAIN, AGROSTAT, 1997.)

<b>ΗΠΕΙΡΟΣ</b>	<b>ΕΚΤΑΣΗ (χιλ. στρ.)</b>	<b>ΠΑΡΑΓΩΓΗ (χιλ. τόνοι)</b>	<b>ΠΟΣΟΣΤΟ % ΤΟΥ ΣΥΝΟΛΟΥ</b>
Αφρική	5.070	8.633	13,4
Β. και Κ. Αμερική	3.080	11.178	17,5
Ν. Αμερική	1.560	4.376	6,9
Ασία	8.410	15.735	24,6
Ευρώπη	4.470	16.522	25,9
Ωκεανία	100	343	0,5
Πρώην ΕΕΣΔ	4.000	7.200	11,2
<b>ΠΑΓΚΟΣΜΙΑ</b>	<b>26.690</b>	<b>63.988</b>	<b>100</b>

**Πίνακας 2.** Έκταση και παραγωγή τομάτας ανά ήπειρο (Στοιχεία FAO, 1997).

### **1.3 Η καλλιέργεια της τομάτας στην Ελλάδα**

Οι κυριότεροι ελληνικοί νομοί ως προς την έκταση νωπής υπαίθριας τομάτας κατά το έτος 1989 ήταν:

- Αχαΐας 8.600 στρ.
- Θεσ/νίκης 8.386 στρ.
- Λακωνίας 8.000 στρ.
- Εύβοιας 7.100 στρ.
- Φθιώτιδας 6.800 στρ.
- Κορινθίας 6.500 στρ.
- Αιτωλ/νίας 6.450 στρ.
- Χαλκιδικής 5.800 στρ.
- Κυκλάδων 5.100 στρ.
- Λέσβου 5.000 στρ.
- Λαρίσης 5.000 στρ.

Τα γεωγραφικά διαμερίσματα με τις μεγαλύτερες εκτάσεις νωπής τομάτας θερμοκηπίου είναι:

- Κρήτης 6.006 στρ.
- Πελοποννήσου-Δ. Στερεάς 3.796 στρ.
- Δ. και Κ. Μακεδονίας 3.596 στρ.
- Ηπείρου 1.304 στρ.
- Αττικής-Νήσων 824 στρ.
- Α. Μακεδονίας-Θράκης 480 στρ.

Τέλος οι νομοί με τη μεγαλύτερη έκταση της βιομηχανικής τομάτας είναι οι:

- Ηλείας 30.000 στρ.
- Ημαθίας 16.000 στρ.
- Βοιωτίας 15.000 στρ.
- Σερρών 15.000 στρ.
- Περιοχή Γιαννιτσών 14.000 στρ.
- Φθιώτιδας 14.000 στρ.
- Θεσ/νίκης 11.227 στρ.
- Ροδόπης 8.200 στρ.

Το 44,7% των εκτάσεων καλλιεργείται με βιομηχανική τομάτα, το 49,9% με νωπή τομάτα υπαίθριας καλλιέργειας και το 5,4% με νωπή τομάτα θερμοκηπιακής καλλιέργειας.

#### **1.4 Η καλλιέργεια της τομάτας**

Η τομάτα καλλιεργείται για δυο χρήσεις: για νωπή κατανάλωση, παραγόμενη είτε στην ύπαιθρο είτε σε θερμοκήπια και για βιομηχανική επεξεργασία.

Η καλλιέργεια της βιομηχανικής τομάτας είναι υπαίθρια και πλήρως εκμηχανισμένη. Καλλιεργείται το καλοκαίρι και είναι λιγότερο παραγωγική από την επιτραπέζια.

Σχετικά με την επιτραπέζια τομάτα, διαφέρει τόσο ο τρόπος καλλιέργειας όσο και η μορφολογία του καρπού που πρέπει να είναι μεγαλύτερος και πιο συμπαγής. Επίσης, αυτός πρέπει να διαθέτει μετασυλλεκτική αντοχή ώστε να μπορεί να διατίθεται και σε μακρινές αποστάσεις.

##### **1.4.1 Καλλιεργητική τεχνική**

Το είδος *Lycopersicon esculentum* καλλιεργείται κατά τη θερμή περίοδο του έτους και απαιτεί χρονική περίοδο διάρκειας τουλάχιστον 3-4 μηνών από τη σπορά μέχρι την έναρξη της συγκομιδής. Κάτω των 12°C, το φυτό παθαίνει ζημιές σε όλα τα στάδια ανάπτυξής του. Το άριστο της βλαστικής ανάπτυξης παρατηρείται στους 20-25°C. Η βλαστική ανάπτυξη είναι ταχύτερη όταν παρατηρείται διαφορά θερμοκρασίας ημέρας και νύχτας 4-5°C (θερμοπεριοδισμός). Η άριστη θερμοκρασία νύχτας ποικίλλει ανάλογα με την ηλικία του φυτού. Η καρπόδεση, στις περισσότερες ποικιλίες, επιτελείται καλύτερα στους 16-22°C, ενώ δε γίνεται σε θερμοκρασίες άνω των 30-35°C και κάτω των 10-15°C λόγω σχηματισμού ατελών ανθέων ή μη γονιμοποίησης με συνέπεια την ανθόρροια. Παρουσιάζει ποσοτική, φωτοπεριοδική

αντίδραση, δηλαδή ανθίζει σε οποιαδήποτε φωτοπερίοδο, αλλά όταν αυτή είναι κάτω των 12 ωρών, η άνθιση είναι πρόιμη. Απαιτεί υψηλές εντάσεις φωτός (50.000 lux) για το άριστο ανάπτυξης και καρπόδεσης.

Μπορεί να καλλιεργηθεί σε όλες σχεδόν τις κατηγορίες εδαφών (οργανικά, ελαφρά, μέσης συστάσεως, ακόμη και βαριά), αρκεί αυτά να στραγγίζουν ικανοποιητικά. Οι απαιτήσεις σε έδαφος αυξάνουν όταν επιθυμείται πρωιμότητα και υψηλή παραγωγή. Για μεγάλη απόδοση σε βιομηχανική τομάτα προτιμώνται τα πηλώδη, αργιλλοπηλώδη ή πιο βαριά εδάφη που έχουν μεγάλη υδατοϊκανότητα και συνήθως καλή γονιμότητα. Όσον αφορά την πρόιμη ωρίμανση επιτραπέζιας τομάτας, προτιμάται να καλλιεργείται σε ελαφρότερα εδάφη (πηλοαμμώδη, αμμοπηλώδη), τα οποία στραγγίζουν καλύτερα και θερμαίνονται νωρίτερα την άνοιξη, χρειάζονται όμως περισσότερη λίπανση, καθώς είναι λιγότερο γόνιμα, και συχνότερη άρδευση. Σε όλες τις περιπτώσεις, είναι επιθυμητή η υψηλή περιεκτικότητα του εδάφους σε οργανική ουσία, καθώς και σε ανόργανα θρεπτικά στοιχεία. Το ανεκτό pH είναι 5,5-7 με άριστο 6-6.5. Τέλος, πρέπει να αποφεύγονται τα αλατούχα εδάφη.

Αναφορικά με τη λίπανση, το ύψος των φυτών, η φυλλική επιφάνεια και ο αριθμός των ανθέων και καρπών οφείλονται περισσότερο στην επίδραση του αζώτου (N). Μεγάλες αποδόσεις καρπών επιτυγχάνονται με μέτριες δόσεις αζώτου τόσο σε θερμοκηπιακές όσο και σε υπαίθριες καλλιέργειες τομάτας. Η αύξηση της παραγωγής με τη χορήγησή του οφείλεται στην αύξηση του αριθμού των συγκομιζόμενων καρπών και όχι στην αύξηση του βάρους των καρπών. Μεγάλες δόσεις αζώτου οδηγούν σε οψίμιση της ωρίμανσης, ιδιαίτερα σε υπαίθριες καλλιέργειες. Τα φυτά απορροφούν και αμμωνιακό και νιτρικό άζωτο. Η ταχύτερη απορρόφηση της μιας ή της άλλης μορφής εξαρτάται κυρίως από το pH του υποστρώματος ανάπτυξης. Η χρησιμοποίηση αμμωνιακού αζώτου μειώνει την περιεκτικότητα σε κάλιο σε νεαρά σπορόφυτα και την περιεκτικότητα ώριμων

φύλλων τομάτας σε ασβέστιο και μαγνήσιο και αυξάνει το ποσοστό των καρπών που παρουσιάζουν συμπτώματα ξηρής κορυφής. Στις ελληνικές θερμοκηπιακές καλλιέργειες, τα λιπάσματα νιτρικής αμμωνίας, νιτρικού ασβεστίου και νιτρικού καλίου θεωρούνται τα καταλληλότερα.

Ο φωσφόρος (P) επιταχύνει την αύξηση του ριζικού συστήματος. Αντίθετα, η ανεπάρκειά του μπορεί να περιορίσει τη βλάστηση και την καρποφορία φυτών τομάτας. Η αντίδραση των φυτών στη φωσφορική λίπανση εξαρτάται από τα εδαφικά αποθέματα φωσφόρου και από το pH του υποστρώματος ανάπτυξής τους.

Μέγιστη παραγωγή τομάτας επιτυγχάνεται με σχετικά μέσα επίπεδα καλίου (K). Η χορήγηση καλίου μόνο για την επίτευξη μέγιστης παραγωγής έχει σαν αποτέλεσμα οι καρποί να είναι μέτριας ποιότητας. Η προσθήκη μεγαλύτερων ποσοτήτων του στοιχείου από εκείνες που χρειάζονται για μέγιστη παραγωγή έχει σαν αποτέλεσμα την απορρόφηση από τα φυτά μεγάλων ποσοτήτων, με συνέπεια τη βελτίωση των παραμέτρων που καθορίζουν την ποιότητα των καρπών. Η περιεκτικότητα σε σάκχαρα και ολική οξύτητα του χυμού της τομάτας, είναι δυο βασικές παράμετροι που καθορίζουν τη γεύση της τομάτας.

Το ασβέστιο (Ca) είναι υπεύθυνο για την αύξηση των μεριστωματικών ιστών. Σπάνια παρατηρείται αντίδραση των φυτών, επειδή τα περισσότερα ανόργανα εδάφη είναι πλούσια σ' αυτό. Αντίθετα, παρατηρούνται συχνές ανωμαλίες στους καρπούς από ανεπαρκή τροφοδοσία τους σε ασβέστιο.

Ανεπαρκής εφοδιασμός του εδάφους με μαγνήσιο (Mg) μπορεί να επιφέρει μείωση στην ανάπτυξη και την παραγωγή. Αντίθετα, χορήγησή του βελτιώνει τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των καρπών.

Η καλλιεργητική τεχνική που εφαρμόζεται στην υπαίθρια καλλιέργεια τομάτας αφορά τα εξής:

- κλάδεμα
- κορυφολόγημα

- αποφύλλωση
- υποστύλωση.

Στην υπαίθρια καλλιέργεια επιτραπέζιας τομάτας, την περίοδο αμέσως μετά τη μεταφύτευση, συνιστάται συχνή επιφανειακή καλλιέργεια του εδάφους για την καταστροφή των ζιζανίων. Όταν τα φυτά αναπτυχθούν, ανταγωνίζονται επιτυχώς τα ζιζάνια και σταματά η κατεργασία του εδάφους. Τα φυτά κλαδεύονται σε μονοστέλεχο ή διστέλεχο σύστημα και υποστηρίζονται. Στην υπαίθρια καλλιέργεια βιομηχανικής τομάτας, μετά τη μεταφύτευση ή το φύτευμα, γίνεται γέμισμα των αυλακιών που έχουν ανοιχθεί. Συνιστάται επιφανειακή κατεργασία του εδάφους μεταξύ των γραμμών, για καλύτερο αερισμό, αποστράγγιση του εδάφους και καταστροφή των ζιζανίων.

Αναφορικά με την άρδευση του *Lycopersicon esculentum* συνιστώνται τακτικά ποτίσματα. Το φυτό ανέχεται υψηλό ποσοστό αλάτων νερού (ως 3-5 mmhos/cm) ενώ στο έδαφος αυτά δεν πρέπει να ξεπερνούν τα 3 mmhos/cm. Το πότισμα γίνεται συνήθως με στάγδην άρδευση. Μια καλλιέργεια που ποτίζεται με στάγδην άρδευση από τον Οκτώβριο και μετά, απαιτεί 600-700m<sup>3</sup> νερού/στρέμμα. Για τη βιομηχανική τομάτα χρειάζονται 400-500m<sup>3</sup> νερού/στρέμμα. Ο προγραμματισμός της άρδευσης πρέπει να προβλέπει επεμβάσεις στα εξής στάδια:

- φυτά στο πέμπτο πραγματικό φύλλο
- φυτά στη μέγιστη ανθοφορία
- φυτά με 10% ώριμους καρπούς.

Η άρδευση πρέπει να διακόπτεται με την εμφάνιση των πρώτων ώριμων καρπών, ώστε να ευνοηθεί η ομοιομορφία ωρίμανσης.

Το κυριότερο κριτήριο για τη συγκομιδή της τομάτας είναι το χρώμα. Η τομάτα νωπής κατανάλωσης συγκομίζεται νωρίτερα, ανάλογα με την απόσταση της αγοράς που μεταφέρεται, ως εξής:

**1.** Στο στάδιο του ώριμου πράσινου, όπου ο καρπός έχει αποκτήσει σχεδόν το τελικό μέγεθός του, και η ωρίμανσή του



συμπληρώνεται σε 1-2 εβδομάδες σε θερμοκρασία 18-20°C. Επομένως, για διάθεση σε μακρινές αγορές η τομάτα συγκομίζεται στο στάδιο αυτό.

2. Στο στάδιο που το 1/4 περίπου του καρπού είναι ρόδινο. Οι καρποί ωριμάζουν σε 3-4 ημέρες στους 18-20°C, και συνεπώς μπορούν να διακινηθούν σε σχετικά κοντινές αγορές.

3. Στο στάδιο που ο καρπός είναι σχεδόν 100% κόκκινος, αλλά ακόμη σκληρός. Η τομάτα συγκομίζεται στο στάδιο αυτό για διάθεση στην τοπική αγορά.

Η βιομηχανική τομάτα συγκομίζεται όταν οι καρποί έχουν αποκτήσει βαθύ κόκκινο χρώμα, οπότε στο στάδιο αυτό οι οργανοληπτικές τους ιδιότητες θα έχουν αποκτήσει άριστες τιμές. Η συγκομιδή αρχίζει συνήθως από τις 15-20 Ιουλίου για τις πρώιμες ποικιλίες, ενώ τον Αύγουστο και Σεπτέμβριο συγκομίζεται ο κύριος όγκος της παραγωγής, που προέρχεται από τις μεσοπρώιμες ποικιλίες. Η συγκομιδή μπορεί να συνεχιστεί και μέχρι τέλη Οκτωβρίου με τις όψιμες ποικιλίες. Στην Ελλάδα, η απόδοση της βιομηχανικής τομάτας κυμαίνεται από 4-10 τόνους/στρέμμα. Η συνήθης απόδοση της επιτραπέζιας τομάτας υπαίθρου είναι 4-6 τόνοι/στρέμμα, ενώ στο θερμοκήπιο η απόδοση κυμαίνεται από 6-12 τόνους/στρέμμα.

#### **1.4.2 Ποικιλίες τομάτας**

Τα τελευταία χρόνια οι περισσότερο διαδεδομένες ποικιλίες (ή υβρίδια) τομάτας που καλλιεργούνται στην Ελλάδα είναι οι εξής:

1. Για βιομηχανική επεξεργασία: οι ποικιλίες αυτές είναι γενικά νάνες και μικρόκαρπες. Ο χρόνος από τη μεταφύτευση ως την ωρίμανση του 50% περίπου των καρπών είναι 90-110 ημέρες. Μερικές από τις βιομηχανικές ποικιλίες τομάτας που καλλιεργούνται σήμερα στην Ελλάδα,

είναι οι εξής: Sonora, Oval Red, Red Ball, Titano, Rio Grande.

2. Για νωπή κατανάλωση: είναι ποικιλίες ή συνήθως υβρίδια, φυτά αναρριχώμενα με μέτρια ως μεγάλη βλαστική ανάπτυξη, μεσόκαρπα ή μεγαλόκαρπα. Μερικά από τα καλλιεργούμενα υβρίδια είναι: ALONSO, ARLETTA, MERETO, ACOR, ASE, BELLADONA, ANGELA F1, DOMBITO F1, CARMELO F1 (GC 204), DOMBO F1, JOLLY F1, CARUSO F1, CONCRETO F1, FANTASTIC F1, VISION F1 (Ολύμπιος, 2001).

### 1.4.3 Είδη τομάτας

Εκτός από το είδος *Lycopersicon esculentum*, στο γένος *Lycopersicon* ανήκουν και τα εξής άλλα είδη:

- *L. parviflorum*
- *L. pimpinellifolium*
- *L. hirsutum*
- *L. chilense*
- *L. cheesmanii*
- *L. chmielewskii*
- *L. pennellii*
- *L. peruvianum*.

Τα παραπάνω είδη είναι διπλοειδή ( $2n=24$  χρωμοσώματα).

### 1.4.4 Ασθένειες-Παθογόνα

Η τομάτα προσβάλλεται από νηματώδεις (*Meloidogyne spp*), σιδηροσκώληκες (*Agriotes obscurus*), αφίδες, θρίπες, φυλλορύκτες (*Lyriomyza trifolii*, *Lyriomyza bryoniae*), τετράνυχους (*Tetranychus urticae*, *Aculops lycopersici*), αλευρώδεις (*Trialeurodes vaporarum*). Επίσης προσβάλλεται από μυκητολογικές ασθένειες όπως αδρομυκώσεις, καστανή σήψη, ντιντιμέλλα, φαιά σήψη, περονόσπορο, αλτερνάρια,

κλαδοσπορίωση, οΐδιο, σκληρωτίνια, σεπτόρια και από βακτηριώσεις όπως βακτηριακό έλκος, βακτηριακή κηλίδωση, βακτηριακή στιγματώση. Οι ιώσεις που εμφανίζονται είναι: μωσαϊκή του καπνού (TMV), μωσαϊκή του αγγουριού (CMV) και κίτρινο καρούλιασμα των φύλλων (TYLCV).

#### **1.4.5 Η βελτίωση της τομάτας**

Οι προσπάθειες της γενετικής βελτίωσης στην τομάτα έχουν αναδείξει σημαντικά αποτελέσματα, μεταξύ των οποίων αξίζει να αναφερθούν τα εξής:

- ✓ αύξηση παραγωγής (με αύξηση μεγέθους καρπού και αριθμού καρπών ανά φυτό)
- ✓ βελτίωση ποιότητας καρπών (σχήματος, χρώματος, αρώματος, υφής)
- ✓ ανακάλυψη γενετικά ελεγχόμενης ανάπτυξης (αυτοκλαδευόμενες ποικιλίες)
- ✓ βελτίωση αντοχής του καρπού σε μεταχειρίσεις και αποθήκευση (αξιοποίηση γονιδίου πολυγαλακτουρονάσης)
- ✓ πρωίμιση παραγωγής
- ✓ δυνατότητα καρπόδεσης σε αντίξοες συνθήκες
- ✓ αντοχή σε εχθρούς και ασθένειες.

Επιπλέον, με τη γενετική βελτίωση έχουν επιτευχθεί και σημαντικές αλλαγές στη μορφολογία του άνθους, όπου από μακρόστυλα έχουν επιλεγεί κοντόστυλα, που εξυπηρετούν την αυτογονιμοποίηση και ευνοούν την καλλιέργεια στα θερμοκήπια.

Τα φυσιολογικά χαρακτηριστικά της βιομηχανικής τομάτας και της τομάτας νωπής κατανάλωσης, με τα οποία ασχολείται η βελτίωση, είναι:

- ❖ **Πρωιμότητα παραγωγής.** Αυτό σημαίνει την ανάπτυξη ποικιλιών, που συμπληρώνουν το βιολογικό τους κύκλο σε

συντομότερο χρονικό διάστημα. Τα πλεονεκτήματα που προκύπτουν είναι πολλαπλά. Για παράδειγμα, η καλλιέργεια μπορεί να επεκταθεί γεωγραφικά και να αποτραπεί η εμφάνιση ασθενειών και εχθρών λόγω της μείωσης του χρόνου που βρίσκεται στον αγρό. Κάποιες από τις υφιστάμενες ποικιλίες ολοκληρώνουν το βιολογικό τους κύκλο σε 90 ή και λιγότερες ημέρες.

- ❖ **Ωρίμανση του καρπού.** Η γενετική μηχανική έχει δυο προσεγγίσεις γι' αυτό το θέμα. Η μία είναι η καθυστέρηση ολόκληρης της διαδικασίας ωρίμανσης, με χρήση μέσων που καθυστερούν τη σύνθεση του αιθυλενίου, της κύριας ορμόνης που εκκινεί τη διαδικασία ωρίμανσης. Η άλλη προσέγγιση στοχεύει στην καθυστέρηση ενός μέρους της διαδικασίας που ξεκινά το αιθυλένιο, που είναι κυρίως ο εκφυλισμός των κυττάρων των τοιχωμάτων που οδηγεί στο μαλάκωμα του καρπού. Η τομάτα *Flavr Savr* είναι ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα αυτής της προσέγγισης (πολυγαλακτουρονάση).
- ❖ **Αύξηση καρπόδεσης.** Αυτή υποβοηθείται και με τη χρήση γιββερελινών.
- ❖ **Καθορισμός τύπου φυτού.** Τα γονίδια *d* και *sp* ελέγχουν το νανισμό και την ανάπτυξη του φυτού αντίστοιχα. Συνεπώς, ανάλογα με το φυτό που επιθυμείται να παραχθεί, επιλέγονται και τα κατάλληλα γονίδια.
- ❖ **Προσαρμογή στις καλλιεργητικές τεχνικές.** Οι ποικιλίες Florida και MH-1 που φέρουν το γονίδιο *br* και παρουσιάζουν συγκεντρωμένη καρποφορία προσαρμόζονται πλήρως στις καλλιεργητικές τεχνικές.
- ❖ **Αντοχή στις ασθένειες.** Ένα από τα σημαντικά παθογόνα που προσβάλλουν την τομάτα είναι το *Fusarium sp.* Σε διάφορα βελτιωτικά προγράμματα έχει επιτευχθεί ανάπτυξη ποικιλιών με αντοχή σ' αυτό. Η Manalucie ήταν ένα κύριο βελτιωτικό επίτευγμα της δεκαετίας του 1950, που συνδύαζε αντοχή στο *Fusarium sp* και αυξημένη ποιότητα καρπού. Η

Walter παρήχθη το 1969 και αποτέλεσε την πρώτη ποικιλία με αντοχή στο μύκητα, που καλλιεργήθηκε παγκοσμίως. Το γονίδιο I-3 που προσδίδει αντοχή στο *Fusarium sp.*, χρησιμοποιείται σήμερα ευρέως στα βελτιωτικά προγράμματα τομάτας σ' όλο τον κόσμο. Η βελτιωτική σειρά Florida 7547 χρησιμοποιείται ως γονέας σε σύγχρονες υβριδιακές ποικιλίες με ανθεκτικότητα στο *Fusarium sp.* Η Florida 7547 είναι αξιόλογη για τα υπέρτερα αγρονομικά χαρακτηριστικά της. Επίσης, η βελτιωτική σειρά Florida 7804 χρησιμοποιείται στο υβρίδιο Sebring που έχει αντοχή στο *Fusarium sp.* Αναφορικά με το *Oidium lycopersicum*, έχουν βρεθεί πολλές μορφές ανθεκτικότητας σε άγρια είδη *Lycopersicon*. Η αντίσταση σε δυο μορφές *L. hirsutum* σχετίζεται με μια υπερευαίσθητη απόκριση και ελέγχεται από τα ατελή κυρίαρχα γονίδια OI-1 και OI-3, που βρίσκονται στο χρωμόσωμα 6. Η αντίσταση στο *L. parviflorum* ελέγχεται από 3 QRLs (Quantative Resistant Loci). Για το *Botrytis cinerea* έχει θεωρηθεί ότι πολλοί γενότυποι του *Lycopersicon* εμφανίζουν μερική ανθεκτικότητα. Έχουν κλωνοποιηθεί 10 γονιδιά του, τα οποία εκφράζονται κατά τη διάρκεια της μόλυνσης των φύλλων της τομάτας. Δυο από αυτά, κωδικοποιούν μια ασπαρτική πρωτεάση και μια γλουταθειόνη S-τρανσφεράση. Πρόκειται να γίνει εκτίμηση αυτών για να διασαφηνιστεί το κατά πόσο και πως επιδρούν στην πορεία της μόλυνσης. Η αντοχή στο *Cladosporium fulvum* ελέγχεται από το γονίδιο Cf.

- ❖ **Αντοχή στις βακτηριώσεις.** Η ποικιλία Neptune ήταν η πρώτη με αντοχή στο βακτηριακό έλκος που απελευθερώθηκε από το Πανεπιστήμιο της Φλόριντα. Σχετικά με το *Xanthomonas campestris*, που προκαλεί βακτηριακή κηλίδωση, δεν υπάρχουν ποικιλίες απόλυτα ανθεκτικές. Μελλοντικά, στα βελτιωτικά προγράμματα πρόκειται να χρησιμοποιηθούν άγριες σειρές, οι οποίες

εμπεριέχουν κάποιες μορφές ανθεκτικότητας. Οι νέες ποικιλίες θα ελευθερωθούν σε 4-5 έτη. Το *Pseudomonas syringae* προκαλεί τη βακτηριακή στιγματώση και οι σειρές που αντιστέκονται περισσότερο στο παθογόνο είναι οι Quick Pick, Floramerica και Early Girl.

- ❖ **Αντοχή στους ιούς.** Όπως προαναφέρθηκε, οι ιοί που προσβάλλουν την τομάτα είναι οι: CMV, TYLCV και TMV. Το γονίδιο ανθεκτικότητας στον TMV είναι το Tm-<sup>2a</sup>. Αυτό επιδρά σε ποικίλα χαρακτηριστικά, και, αν χρησιμοποιηθεί στο ετεροζύγωτο επίπεδο, θα συμβάλλει στην αύξηση της απόδοσης, λόγω αυξημένης αντίστασης στον ιό. Όσον αφορά τον ιό TYLCV, η αντοχή εισήχθη από άγρια είδη τομάτας και κυρίως από τα *L. pimpinellifolium* και *L. peruvianum*. Άλλες πηγές αποτέλεσαν:

- i) υβρίδια (FAVI 9, FAVI 12, FAVI 13) με εισαγωγές από το *L. hirsutum* και τη σειρά TY52 που είναι ομοζύγωτη για το γονίδιο Ty1 από το *L. chilense*,
- ii) η σειρά H24 με εισαγωγές από το *L. hirsutum* και
- iii) πολλές σειρές με εισαγωγές από το *L. chilense*.

Όλες οι παραπάνω σειρές ή τα υβρίδια είχαν μέτρια έως υψηλά επίπεδα ιϊκής ανθεκτικότητας.

- ❖ **Αντοχή στα έντομα.** Κύριο πρόβλημα για την καλλιέργεια της τομάτας αποτελούν οι αφίδες και οι θρίπες. Για τη βελτίωση αυτού του χαρακτηριστικού χρησιμοποιούνται οι πρωτεΐνες Bt από το είδος *Bacillus thuringiensis*.
- ❖ **Αντοχή στους νηματώδεις.** Κύριο πρόβλημα αποτελεί ο *Meloidogyne incognita*. Στο είδος *L. peruvianum* έχει παρατηρηθεί ανθεκτικότητα, η οποία μπορεί να μεταφερθεί με επαναδιασταύρωση ή εμβρυοκαλλιέργεια.
- ❖ **Αντοχή σε υψηλές ή χαμηλές θερμοκρασίες.** Η ποικιλία Solar Set, που παρήχθη τη δεκαετία του 1990, θεωρείται η

πρώτη ποικιλία με ανθεκτικό καρπό στις υψηλές θερμοκρασίες.

- ❖ **Αντοχή σε αντίξοες συνθήκες.** Κυρίως γίνεται βελτίωση για αντοχή στην αλατότητα, όπου δυο ανθεκτικές φυλές είναι οι Chwerotonglo και Nyanyandogo, και για αντοχή στην ξηρασία.
- ❖ **Αντοχή σε χημικά.** (ζιζανιοκτόνα, παρασιτοκτόνα κλπ).
- ❖ **Ευρεία προσαρμοστικότητα.** Η ποικιλία Flora-Dade παρουσίασε υψηλή προσαρμοστικότητα και αναπτύχθηκε σε εμπορική κλίμακα στις ΝΔ ΗΠΑ και σε πολλές άλλες περιοχές του κόσμου, όπως και στην Αφρική και Αυστραλία.

#### ***1.4.7 Χαρακτηριστικά ποιότητας προς βελτίωση***

##### **A) Τομάτα νωπής κατανάλωση**

- ❖ **Χρώμα καρπού.** Τα πιο σημαντικά γονίδια που ελέγχουν το χρώμα του καρπού είναι τα *hr* και *crimson og<sup>c</sup>*. Το πρώτο αυξάνει τη συγκέντρωση των καροτενοειδών και της βιταμίνης Α στον καρπό, βελτιώνοντας μ' αυτόν τον τρόπο το χρώμα του. Το δεύτερο αυξάνει τη συγκέντρωση λυκοπενίου, ενώ μειώνεται η συγκέντρωση των β-καροτενοειδών.
- ❖ **Γεύση καρπού.** Καθορίζεται από την περιεκτικότητα σε σάκχαρα. Όσο μεγαλύτερη είναι αυτή, τόσο εντονότερη είναι η γεύση του καρπού

- ❖ **Υφή-σκληρότητα καρπού.** Η διατήρηση της σκληρότητας για μεγάλο χρονικό διάστημα θα μπορούσε να επιτευχθεί με παραγωγή ποικιλιών μικρότερης έκλυσης αιθυλενίου.
- ❖ **Περιεκτικότητα θρεπτικών συστατικών.** Η τομάτα αποτελεί πηγή βιταμινών Α και C. Τα καροτενοειδή αποτελούν την κυριότερη πηγή βιταμίνης Α. Η παραγωγή β-καροτενοειδών ελέγχεται από το κυρίαρχο γονίδιο β.

## B) Βιομηχανική τομάτα

- ❖ **Χρώμα καρπού και περιεχόμενο σε λυκοπένιο.**
- ❖ **pH καρπού και οξύτητα χυμού.** Το μέγιστο αποδεκτό pH χυμού τομάτας για τη βιομηχανία είναι 4,5. Όσο αυξάνει το pH, τόσο αυξάνει και ο χρόνος επεξεργασίας, καθώς από το pH καθορίζεται ο χρόνος θέρμανσης του χυμού.
- ❖ **Περιεκτικότητα διαλυτών στερεών.** Η αύξησή τους από 5% σε 6% θα αυξήσει τα κέρδη της βιομηχανίας.
- ❖ **Αύξηση περιεχόμενου αμύλου και μείωση περιεκτικότητας σε νερό.** Αυτό θα οδηγήσει σε αύξηση του ξηρού βάρους και σε μείωση της τιμής των προϊόντων.

## **1.5 Μοριακοί δείκτες στην βελτίωση των φυτών**

### **1.5.1 Τύποι μοριακών δεικτών**

Για την ανίχνευση πολυμορφισμών σε επίπεδο DNA έχουν αναπτυχθεί αρκετές τεχνικές και η επιλογή της κατάλληλης κάθε φορά, αποτελεί για το συγκεκριμένο πρόγραμμα ουσιαστικά το πρώτο από τα προβλήματα που καλείται να λύσει ο ερευνητής. Στην πραγματικότητα, υπάρχουν τρεις κατηγορίες στις οποίες κατατάσσεται κάθε τεχνική: α) προσεγγίσεις που δεν βασίζονται



στην PCR, β) μέθοδοι βασιζόμενοι στην αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR), γ) συνδυασμός RT- PCR συγκεκριμένου στόχου και αλληλούχιση.

### **1.5.2 Τεχνικές μη βασιζόμενες στην PCR**

Στην κατηγορία αυτή ανήκει η RFLP ανάλυση (Restriction Fragment Length Polymorphism) που αποτελεί και την πρώτη τεχνολογία που αναπτύχθηκε για την ανίχνευση των πολυμορφισμών σε επίπεδο αλληλουχίας DNA. Η προσέγγιση αυτή περιλαμβάνει τεμαχισμό του DNA με περιοριστικά ένζυμα, διαχωρισμό των τμημάτων DNA που προκύπτουν με πηκτή ηλεκτροφόρησης, διαχωρισμό των τμημάτων σε μεμβράνη και υβριδισμός ανιχνευτών στα ξεχωρισμένα τμήματα.

### **1.5.3 PCR τεχνικές**

#### **1.5.3.1 Διαδικασία προσέγγισης (με τυχαίο εκκινητή)**

Η ανάλυση συγκεκριμένων αλληλουχιών νουκλεοτιδίων, συχνά εμποδίζεται από την παρουσία ξένων υλών ή από την υπερβολικά μικρή ποσότητα υλικού που είναι διαθέσιμα για εξέταση. Η μέθοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction) ξεπερνά αυτά τα εμπόδια. Η τεχνική αυτή είναι ικανή να εμπλουτίσει επιλεκτικά μια συγκεκριμένη DNA αλληλουχία έως  $10^6$  φορές, διευκολύνοντας σημαντικά τον επακόλουθο αναλυτικό χειρισμό.

Η ενίσχυση με PCR περιλαμβάνει δύο ολιγονουκλεοτιδικούς εκκινητές οι οποίοι προσεγγίζουν το τμήμα του DNA που θα ενισχυθεί και μετά από επαναλαμβανόμενους κύκλους θέρμανσης του μίγματος, οι δύο αλυσίδες του DNA ανοίγουν και χωρίζουν η μία από την άλλη (στάδιο denaturation). Ακολουθεί ο υβριδισμός

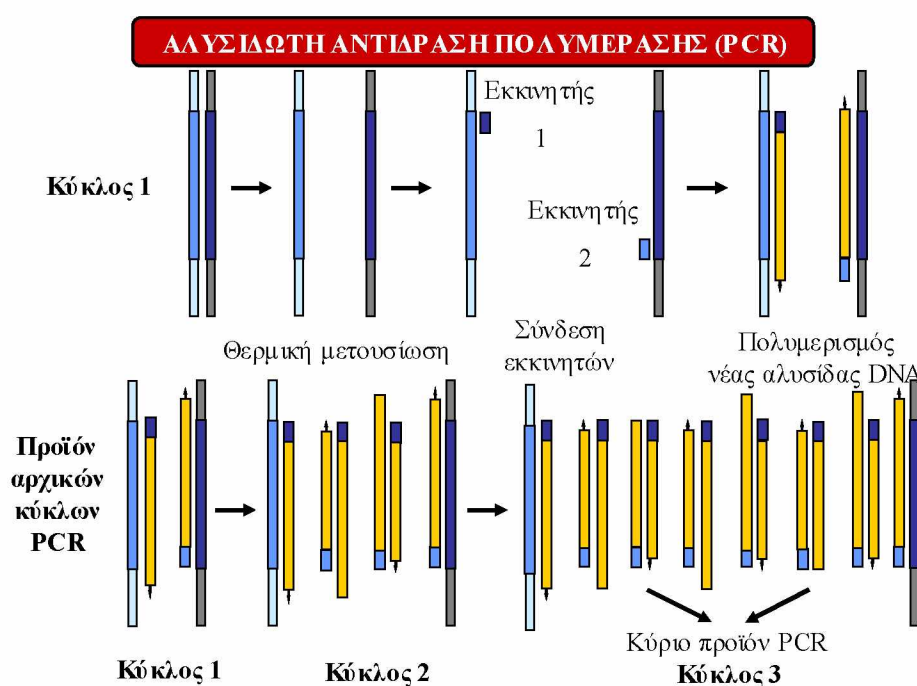
του εκκινητή στις συμπληρωματικές αλληλουχίες (στάδιο annealing) και η προσθήκη τριφωσφορικών δεοξυριβονουκλεοτιδίων, μέσω του ενζύμου Taq Polymerase στο 3' άκρο των εκκινητών χρησιμοποιώντας ως εκμαγείο της ανοιγμένες αλυσίδες του DNA (στάδιο extension). Αφού τα προϊόντα της επέκτασης είναι επίσης συμπληρωματικά των εκκινητών και μπορούν να τους δεσμεύουν, κάθε επιτυχημένος κύκλος ουσιαστικά διπλασιάζει το ποσό του DNA που συντέθηκε στον προηγούμενο κύκλο. Το γεγονός αυτό καταλήγει στην εκθετική συσσώρευση του συγκεκριμένου τμήματος-στόχου, περίπου  $2^n$ , όπου n ο αριθμός των κύκλων.

Με την εμφάνιση της PCR έγινε διαθέσιμη μια σειρά τεχνικών για αξιολόγηση της γενετικής παραλλακτικότητας. Αυτές δεν απαιτούν προηγούμενη γνώση των αλληλουχιών και γι' αυτό μπορούν να εφαρμοσθούν απευθείας σε οποιοδήποτε οργανισμό. Βασίζονται στη χρήση ενός τυχαίου εκκινητή ο οποίος μέσω μιας αντίδρασης PCR μπορεί να "τρέξει" το γενωμικό DNA ενός οργανισμού. Στην αντίδραση αυτή, ο εκκινητής συνδέεται με το γενωμικό DNA σε δύο διαφορετικές θέσεις στις συμπληρωματικές αλυσίδες του πρότυπου DNA. Αν οι δύο αυτές θέσεις βρίσκονται αρκετά κοντά μεταξύ τους, παράγεται ένα διακριτό προϊόν διαμέσου θερμοκυκλικής ενίσχυσης (Karp & Edwards, 1995).

Οι Weeden *et al.* (1992) αναφέρουν ως κατάλληλες συνθήκες για την αντίδραση της PCR, τους 94°C για 1 min, 2 min στους 35°C και 2 min στους 72°C. Μετά από 35 κύκλους για 8 min στους 72°C πριν την ψύξη στους 5°C. Οι τυπικές συνθήκες αντίδρασης και οι παράμετροι του κύκλου φαίνεται να είναι οι κατάλληλες για ένα μεγάλο εύρος φυτών (Weeden *et al.*, 1992).

Ένας αριθμός παρόμοιων τεχνικών που βασίζονται στην αρχή αυτή, αναπτύχθηκε την ίδια εποχή και συνολικά αναφέρονται ως MAAP (Multiple Arbitrary Amplicon Profiling). Στην πιο κοινή προσέγγιση χρησιμοποιούνται εκκινητές 10 ως 20 βάσεων και τα προϊόντα ενίσχυσης διαχωρίζονται σε πηκτή αγαρόζης παρουσία βρωμιούχου αιθιδίου και παρουσιάζονται κάτω από υπεριώδη

ακτινοβολία. Δυο παρόμοιες τεχνικές AP-PCR (Arbitrary Primed PCR) και DAF (DNA Amplification Fingerprinting) διαφέρουν από την προηγούμενη προσέγγιση κυρίως στο μήκος του εκκινητή, στην αυστηρότητα με τη οποία τηρούνται οι συνθήκες και τη μέθοδο διαχωρισμού και ανίχνευσης των τμημάτων του DNA. Σε όλες τις περιπτώσεις οι πολυμορφισμοί ανιχνεύονται ως παρουσία ή απουσία ζωνών στην ηλεκτροφόρηση που προκαλούνται από διαφορές στην αλληλουχία στη μία ή και στις δύο θέσεις σύνδεσης του εκκινητή (Karp & Edwards, 1995).



Σχήμα 1. Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης (PCR)

### 1.5.3.2 Μοριακοί δείκτες τύπου RAPD

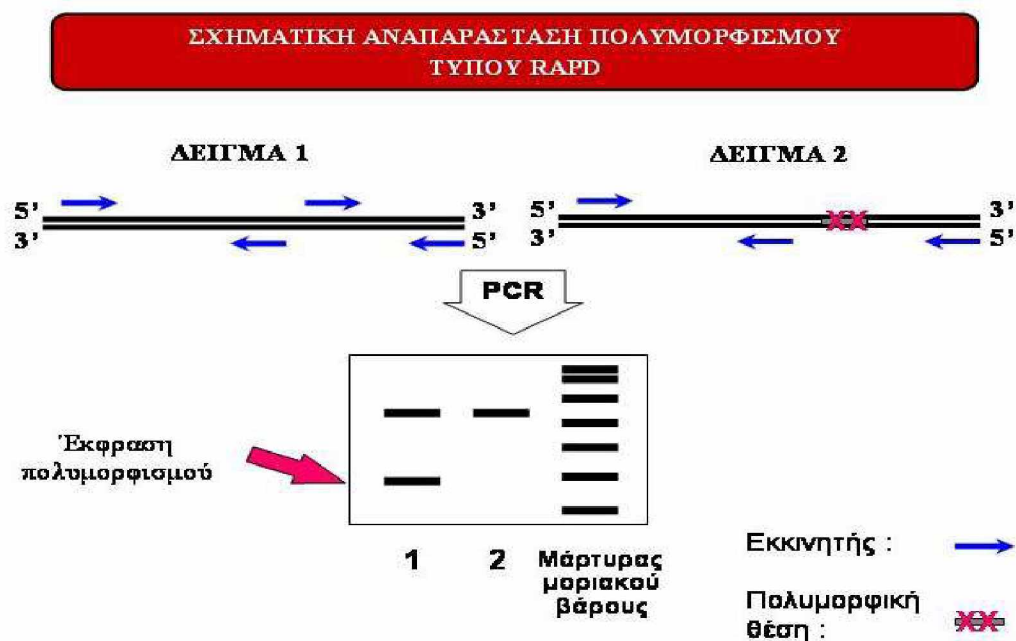
Η τεχνολογία της RAPD'S κέρδισε γρήγορα την αποδοχή και την εφαρμογή γιατί αποτελεί ένα εργαλείο γενετικής ανάλυσης των βιολογικών συστημάτων που προηγουμένως δεν ήταν δυνατόν να μελετηθούν με τη χρήση των μοριακών δεικτών. Βέβαια εξαιτίας της στοχαστικής φύσης της ενίσχυσης του DNA με

τυχαίους εκκινητές αλληλουχιών, είναι σημαντικό να διατηρηθούν σταθερές οι συνθήκες αντίδρασης που έχουν βελτιστοποιηθεί για την ενίσχυση του αναπαραγωγικού DNA. Αρκετοί παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της συγκέντρωσης του πρότυπου DNA, της συγκέντρωσης μαγνησίου, της θερμοκρασίας annealing (αναδόμηση) του εκκινητή, του μήκους και της σύνθεσης των βάσεων του εκκινητή επηρεάζουν την αντίδραση και θα πρέπει να ελέγχονται προσεκτικά (Tingey *et al.*, 1992).

Η συγκέντρωση του DNA είναι μια παράμετρος που εμφανίζει δυσκολίες στην εκτίμηση, ιδιαίτερα όταν η εργασία γίνεται με μικρές ποσότητες φυτικών ιστών. Σχεδόν ίδιοι RAPD φαινότυποι παρατηρήθηκαν για ποσότητες DNA-εκμαγείου ανάμεσα σε 3-30 ng. Στα όρια αυτά οι συγκεντρώσεις του εκκινητή που δίνουν επαναλήψιμα αποτελέσματα κυμάνθηκαν μεταξύ 0.2-1.0 μM. Μικρότερες συγκεντρώσεις τείνουν να ενισχύουν μεγαλύτερα τμήματα (1500-3000 bp). Τα τμήματα αυτά εξαφανίζονται όταν αυξάνεται η συγκέντρωση των εκκινητών και συχνά αντικαθίστανται από πολύ μικρότερα (200-400 bp). Συγκεκριμένοι εκκινητές έδωσαν βέλτιστη ενίσχυση σε συγκεντρώσεις 2 με 4 φορές υψηλότερες των περισσότερων εκκινητών δείχνοντας πως ίσως οι προηγούμενες αλληλουχίες είναι πιο άφθονες στο γένωμα και έτσι οι εκκινητές μειώνονται πιο γρήγορα κατά τη διάρκεια της διαδικασίας ενίσχυσης.

Η ποιότητα του DNA-εκμαγείου έχει μεγάλη επίδραση στην παραγωγή και ανάλυση των ενισχυμένων προϊόντων. Το DNA που απομονώθηκε με σημαντικές ποσότητες πολυσακχαριτών ή φαινολικών ουσιών δεν είναι κατάλληλο ενώ DNA που περιέχει μέτριες ποσότητες ξένων υλών συχνά παράγει θολούς ή εξασθενημένους RAPD φαινοτύπους. Επειδή η διαδικασία της ενίσχυσης απαιτεί μικρές ποσότητες της μήτρας DNA, οι διαδικασίες εξαγωγής που δίνουν έμφαση στην καθαρότητα παρά στην ποιότητα είναι οι πιο κατάλληλες για την έρευνα με δείκτες RAPD.

Οι (Weeden *et al.*, 1992) συμπέραναν ότι με καθαρό DNA και φροντίδα των συνθηκών ενίσχυσης και ηλεκτροφόρησης καθώς και συντηρητική επιλογή των παρατηρούμενων διασπόμενων αποτυπώσεων η εγγενής αναλογία λάθους στην επιλογή των διασπόμενων RAPDs μπορεί να είναι μικρότερη από το 4%.



Σχήμα 2. Σχηματική αναπαράσταση πολυμορφισμού τύπου RAPD.

#### 1.5.4 Μοριακή στατιστική ανάλυση

Τα προϊόντα ενίσχυσης που εμφανίζονται στην πηκτική αгарόζης αποτυπώνονται σε πίνακες όπου σημειώνετε η παρουσία (1) ή η απουσία (0) των αντίστοιχων ζωνών (ζεύγη βάσεων) για κάθε εκκινητή και δείγμα. Υπολογίζετε έτσι το ποσοστό (%) παρουσίας της κάθε ζώνης μεταξύ των εξεταζόμενων γενοτύπων.

Με το πρόγραμμα Popgene32 (Yeh and Boyle, 1997) εκτιμάται η γονιδιακή παραλλακτικότητα που σύμφωνα με το Nei (1979) καθώς και το ποσό των πολυμορφικών θέσεων σε κάθε έναν από τους μελετώμενους γενοτύπους.

Το πρόγραμμα NTSYS-pc2 (Rohlf, 2000) χρησιμοποιείται προκειμένου να μελετηθούν τα μοριακά δεδομένα ενός πειράματος με σκοπό να σχηματισθεί δένδρογραμμα γενετικής ομοιότητας των πληθυσμών. Για την εξαγωγή του δένδρογράμματος χρησιμοποιείται ο συντελεστής ομοιότητας του Jaccard και ο συντελεστής ομοιότητας των Nei-Li με δύο διαφορετικές προσεγγίσεις: την προσέγγιση UPGMA (Unweighted pair-group method of arithmetic average) και την προσέγγιση του Neighbourjoining. Σύμφωνα με τους Smith *et al.* (1990) η καλύτερη επιλογή εκτιμητή γενετικής απόστασης για χρήση σε RAPD δεδομένα, εξαρτάται από τη σχετική ποσότητα και ποιότητα των πληροφοριών που παρέχει η κάθε σύγκριση για την εκτίμηση του πολυμορφισμού των αλληλουχιών. Ο συνδυασμός δείκτη-προσέγγισης που απέφερε το δένδρογραμμα με τη μεγαλύτερη συσχέτιση με τον αρχικό πίνακα των δεδομένων, υπολογίζεται με τον αλγόριθμο του Jaccard και το μοντέλο UPGMA ( $r=0.87$ ). Ο Συνδυασμός τους χρησιμοποιείται για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων.

Επίσης μπορεί να γίνει ανάλυση της μοριακής διακύμανσης μεταξύ και ανάμεσα στους γενοτύπους με την τεχνική της AMOVA (Excoffier *et al.*, 1992) με το πρόγραμμα Arlequin (Schneider *et al.*, 2001).

Το πρότυπο ανάλυσης είναι:

ΠΗΓΕΣ ΠΑΡΑΛΛΑΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ	BE	ΜΕΣΑ ΤΕΤΡΑΓΩΝΑ	ANAMENOMENA ΜΕΣΑ ΤΕΤΡΑΓΩΝΑ
Μεταξύ πληθυσμών	$P-1$	SSD(AP)	$n\sigma_a^2 + \sigma^2b$
Εντός πληθυσμών	N-P	SSD(WP)	$\sigma^2b$
Σύνολο	$N-1$	SSD(T)	$\sigma^2T$

Όπου

$SSD(AP)$ : Το άθροισμα των τετραγώνων των αποκλίσεων μεταξύ πληθυσμών

$SSD(WP)$ : Το άθροισμα των τετραγώνων των αποκλίσεων εντός πληθυσμών

$SSD(T)$ : Συνολικό άθροισμα των τετραγώνων των αποκλίσεων

$P$ : Συνολικός αριθμός πληθυσμών

$N$ : Συνολικός αριθμός των ατόμων για γενοτυπικά δεδομένα ή συνολικός αριθμός αντιγράφων γονιδίων για απλοειδικά δεδομένα.

$$n = \frac{N - \sum_p N_p^2 / N}{P - 1}$$
$$F_{ST} = \frac{\sigma^2_a}{\sigma^2_T}$$

Οι επιδράσεις της υποδιαίρεσης ενός πληθυσμού μπορούν να ποσοτικοποιηθούν μέσω ενός δείκτη, του  $F_{ST}$  ο οποίος ορίζεται ως η μείωση στην ετερωζυγωτία σε έναν υποπληθυσμό λόγω μη τυχαίας διασταύρωσης σε σχέση με τον υπόλοιπο πληθυσμό (González-Candelas F. & C. Palacios, 1995).

Η  $\sigma^2_T$ , η συνολική μοριακή διακύμανση είναι το άθροισμα του συστατικού της συνδιακύμανσης που οφείλεται σε διαφορές μεταξύ των απλοτύπων εντός πληθυσμού ( $\sigma^2_b$ ) και του συστατικού της συνδιακύμανσης μεταξύ απλοτύπων σε διαφορετικούς πληθυσμούς μέσα σε μια ομάδα ( $n\sigma^2_a + \sigma^2_b$ )

Κατά την επιλογή δεικτών με τυχαία δειγματοληψία, υπάρχει σφάλμα δείγματος όταν η αναλογία των διαφορών στις θέσεις των δεικτών σε ένα τυχαίο υποδείγμα, δεν αντιστοιχεί στην τιμή που λαμβάνεται αν εξεταστούν όλες οι θέσεις. Διάφορες μελέτες (Smith *et al.*, 1990, Tivang *et al.*, 1992) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι όσο αυξάνονται οι RAPD ζώνες, τόσο μειώνεται ο συντελεστής παραλλακτικότητας του σφάλματος. Για μια

γενετική απόσταση  $d$  που βασίστηκε σε RAPD ζώνες, η διακύμανση και το τυπικό σφάλμα δίνονται από τους δύο παρακάτω τύπους:

$$\text{Variance } (d) = nd(1-d)/(n-1)$$

$$\text{Estimated standard error} = [\text{var}(d)/n]^{1/2}$$

Μία από τις μεγαλύτερες ανησυχίες των ερευνητών είναι η επαναληψιμότητα του αποτελέσματος. Η επαναληψιμότητα του τρόπου που ένα συγκεκριμένο σετ RAPD δεδομένων οργανώνει το γενετικό υλικό μπορεί να μετρηθεί με έλεγχο της επαναληψιμότητας των διαφορών μεταξύ των γενετικών αποστάσεων. Το τυπικό σφάλμα της διαφοράς μεταξύ αποστάσεων θα είναι μία σχέση μεταξύ των διακυμάνσεων και της συνδιακύμανσης των αποστάσεων.

Για την αποφυγή μεγάλων σφαλμάτων θα πρέπει να λαμβάνονται μεγάλα δείγματα. Όμως τα μεγάλα δείγματα παρουσιάζουν και μεγαλύτερο κόστος. Έτσι, το σφάλμα δειγματοληψίας θα μπορούσε να μειωθεί αν μπορούσαν να επιλεγούν δείκτες που θα έδιναν πληροφορίες για ένα συγκεκριμένο πληθυσμό που δεν θα υπερεκτιμούσε ούτε θα υποβίβαζε τον αριθμό των δεικτών σε κάποια περιοχή του γενώματος (Skroch *et al.*, 1992).

Επίσης λόγω της κυριαρχικής συμπεριφοράς των RAPD δεικτών, δεν μπορεί να ξέρει κάποιος τη γενωμική τοποθεσία των ενισχυμένων τμημάτων εκτός αν κάθε τμήμα έχει χαρτογραφηθεί από μια ξεχωριστή ανάλυση διάσπασης (segregation analysis) (Thormann & Osborn, 1992).

Τυπικά, οι RAPD φαινότυποι (προφίλ) για πολλά είδη φυτών δείχνουν περισσότερα από ένα ενισχυμένα τμήματα (ζώνες) και η ένταση των τμημάτων αυτών συχνά διαφέρει αξιοσημείωτα. Σε διασπώμενους πληθυσμούς, όλοι οι τύποι των ενισχυμένων τμημάτων, από τα πιο έντονα ως τα πιο αμυδρά, μπορούν να δείξουν την παρουσία ή την απουσία πολυμορφισμού. Η



segregation analysis προσφέρει ένα τέλειο μέσο εκτίμησης της επαναληψιμότητας των αντιδράσεων ενίσχυσης. Συγκρίσεις σε προφίλ διάσπασης ανάμεσα σε γενεές ή joint segregation analysis, αν είναι διαθέσιμος αρκετός αριθμός δεικτών, παρέχουν ένα πολύ ισχυρό τεστ της αξιοπιστίας των RAPD δεικτών (Weeden *et al.*, 1992).

## **2. Υλικά και Μέθοδοι**

### **2.1 Γενετικό Υλικό**

Το γενετικό υλικό της εργασίας αποτέλεσαν έξι γενότυποι επιτραπέζιας τομάτας. Μεταξύ αυτών τέσσερις παραδοσιακές ποικιλίες: ‘Άσσος’, ‘Λωτός Πράσινος’, ‘Λωτός Άσπρος’, ‘Λωτός Καρδιόσχημος’ και δυο εμπορικές ποικιλίες: ‘Μακεδονία’, ‘Αρετή’.

### **2.2 Αξιολόγηση γενοτύπων με την βοήθεια μοριακών δεικτών**

Για την αξιολόγηση των γενοτύπων με μοριακούς δείκτες RAPD ελήφθησαν δείγματα φύλλων στις 10/7/04. Από κάθε ποικιλία πάρθηκαν φύλλα ώστε να γίνει η εξαγωγή DNA με σκοπό την εύρεση γενετικής συγγένειας.

#### **2.2.1 Απομόνωση DNA**

Το γενωμικό DNA απομονώθηκε από ιστό νεαρών, υγιών φύλλων, βάρους 0,3 γρ. για κάθε δείγμα, σύμφωνα με την CTAB μέθοδο για απομόνωση ολικού DNA. Οι αποδόσεις DNA διαφέρουν αναλόγως με το είδος του ιστού από το οποίο απομονώνονται. Οι φυτικοί ιστοί αποδίδουν 10-50 μg DNA/g ιστού, οι ζωϊκοί ιστοί 1-3 mg/g ιστού, οι χλωροπλάστες και τα μιτοχόνδρια δίνουν 10-50 μg DNA ανά 100 g φυτικού ιστού από τον οποίο απομονώθηκαν τα οργανίδια. Το DNA απομονώνεται σε

τεμάχια μήκους 50-100 kbp λόγω της τριβών που υφίσταται κατά την διαδικασία της απομόνωσής του.

Η απομόνωση DNA από μιτοχόνδρια και χλωροπλάστες προϋποθέτει πρώτα την απομάκρυνση τυχόν πυρηνικού DNA προσκολλημένου στα οργανίδια κατά την απομόνωσή των, αν και για ορισμένες χρήσεις, όπως η ανάλυση θέσεων περιορισμού, αυτό δεν είναι απαραίτητο. Εάν αυτό δεν έχει γίνει κατά την απομόνωση των οργανιδίων, τότε το τελικό ίζημα των οργανιδίων επαναιωρείται σε 350 mM σορβιτόλη ή άλλο ισοτονικό διάλυμα, περιέχουν 50 mM Tris-HCl pH 8, 10-20 mM MgCl<sub>2</sub>, 1-3 mg/10 ml DNάση , και επαφίεται στους 0oC-37oC επί 1 h. Κατόπιν προστίθεται EDTA σε τελική συγκέντρωση 25 mM, τα οργανίδια καθιζάνουν στα 2000-2.500 xg (χλωροπλάστες) ή 10.000 xg (μιτοχόνδρια) επί 10 min, και επαναλαμβάνεται η πλύση με 350 mM σορβιτόλη, 50 mM Tris-HCl pH 8, 10 mM EDTA. Το τελικό ίζημα επαναιωρείται σε 350 mM σορβιτόλη, 50 mM Tris-HCl pH 8, 10 mM EDTA περιέχον και 1% w/v σαρκosύλ ή SDS. Η λύση των μεμβρανών είναι πλήρης σε 2-5 min. Τα αδιάλυτα συστατικά απομακρύνονται με φυγοκέντρωση στα 10.000 xg επί 10 min. Συνιστάται η χρήση οργανιδίων από 100 g φυτικού ή ζωϊκού ιστού.

Πέντε έως 50 g φυτικού ιστού ομογενοποιούνται σε υγρό άζωτο. Ανά g ιστού, προστίθενται 2-4 ml 100 mM Tris-HCl pH 8, 20 mM EDTA, 1% w/v SDS ή σαρκosύλ, 100 μg/ml πρωτεϊνάση K, 1-2% PVPP ή PVP, 10-30 mM β-μερκαπτοαιθανόλη ή 1-10 mM DTT. Το παρασκεύασμα επωάζεται στους 37oC-60oC επί 1-2 h. Τα αδιάλυτα συστατικά απομακρύνονται με φυγοκέντρωση στα 10.000 xg επί 10 min. Εάν ο ιστός περιέχει σημαντικά ποσά πολυσακχαριτών, επιβάλετε η απομάκρυνσή των διότι καθιζάνουν μαζί με το DNA παρουσία κρύας αλκοόλης. Το στάδιο αυτό μπορεί να παραληφθεί εάν ακολουθεί φυγοκέντρωση του DNA σε CsCl. Στο υπερκείμενο προστίθεται NaCl σε τελική συγκέντρωση 700 mM και CTAB σε τελική συγκέντρωση 1% w/v. Το παρασκεύασμα θερμαίνεται στους 60°C επί 10 min. Κατά τον

χρόνο αυτό οι πολυσακχαρίτες σχηματίζουν σύμπλοκα με το CTAB και τις πρωτεΐνες. Το DNA συμπλέκεται επίσης μόνον εάν η συγκέντρωση NaCl είναι κατώτερη του 500 mM. Ακολουθεί φυγοκέντρηση στα 10.000xg επί 10 min για απομάκρυνση των συμπλόκων και κρατείται το υπερκείμενο, το οποίο περιέχει το DNA.

Προστίθεται RNάση I σε τελική συγκέντρωση 1-100 µg/ml και το παρασκεύασμα επωάζεται επί 1 h στους 25°C-40°C για καταστροφή του RNA. Το στάδιο αυτό μπορεί να παραληφθεί εάν ακολουθεί φυγοκέντρηση του DNA σε CsCl. Απομακρύνονται οι πρωτεΐνες με μία εκχύλιση φαινόλης ακολουθούμενη από δύο εκχυλίσεις φαινόλης/χλωροφορμίου και μία εκχύλιση χλωροφορμίου.

Προστίθενται στην υδατική φάση 2.5 όγκοι -20°C αιθανόλης ή ένας όγκος -20°C ισοπροπανόλης και 1/10 όγκοι 3M οξικού νατρίου ή οξικού αμμωνίου ή οξικού καλίου pH 5-5.5. Το παρασκεύασμα επαφίεται στους -20°C επί 1-16 h. Κατά τον χρόνο αυτό τα μόρια του DNA συσσωματώνονται σε αδιάλυτα σύμπλοκα. Η συσσωμάτωση αυτή υποβοηθείται από την οξινοποίηση του διαλύματος λόγω της αφαίρεσης του αρνητικού ηλεκτρικού φορτίου του DNA που αυτή συνεπάγεται. Το προστιθέμενο άλας επίσης υποβοηθά την συσσωμάτωση λόγω του φαινομένου της εξαλάτωσης του DNA. Όμως, η αλκοόλη είναι η κύριος παράγων δημιουργίας συσσωματωμάτων, λόγω της αφυδάτωσης που προκαλεί. Ως άλας μπορεί να χρησιμοποιηθεί και το NaCl, προτιμάται όμως ένα οξικό άλας λόγω της εύκολης εξαέρωσής του κατά την φάση της αποξήρανσης του DNA. Ίχνη του αμμωνιακού άλατος μπορούν να παρεμποδίσουν μερικές αντιδράσεις. Για τον λόγο αυτό, το οξικό κάλιο θεωρείται ως η καλλίτερη επιλογή.

Το DNA παραλαμβάνεται σαν ίζημα μετά από φυγοκέντρηση στα 10.000 xg επί 10 min. Το υπερκείμενο αποχύνεται και στο ίζημα προστίθεται 1-2 ml 70% -20°C αιθανόλης. Πλύνονται με αυτή τα τοιχώματα του σωλήνα και φυγοκεντρείται στα 10.000 xg επί 5 min. Η πλύση αυτή αποσκοπεί στο να απομακρυνθούν ίχνη

του άλατος. Επαναλαμβάνεται η πλύση με 98%-100% αιθανόλη θερμοκρασίας  $-20^{\circ}\text{C}$ . Αυτή την φορά αποσκοπούμε στη απομάκρυνση ιχνών ύδατος ώστε να διευκολυνθεί η ακολουθούσα αποξήρανση του DNA. Το τελικό ίζημα αποξηραίνεται με ελαφρά ροή αζώτου ή με περιστροφή υπό κενό εντός ειδικών αποξηραντών επί 10 min. Το τελικό ίζημα DNA πρέπει να είναι λευκό και μη κολλώδες. Καφέ χρωματισμός υποδηλώνει οξείδωση του DNA από φαινολικές ουσίες που απαντώνται σε αφθονία στα φυτά. Κολλώδης σύσταση υποδηλώνει την παρουσία σημαντικών ποσών πολυσακχαριτών που παρεμποδίζουν πολλές μετέπειτα αντιδράσεις.

Το ξηρό ίζημα διαλύεται σε 10-500  $\mu\text{l}$  TE ή αποστειρωμένου ύδατος και φυλάσσεται σε θερμοκρασία μικρότερη των  $5^{\circ}\text{C}$ . Έτσι μπορεί να παραμείνει σταθερό για χρόνια. Ένας μικρός όγκος του DNA (π.χ. 2.5  $\mu\text{l}$ ) αναμιγνύεται με έναν μικρό όγκο αποστειρωμένου ύδατος (π.χ. 1 ml), τίθενται εντός κυψελίδας πάχους 1 cm, από χαλαζία, και η απορρόφηση του παρασκευάσματος μετράται στα 260, 280, 230, 310 nm με νερό ως διάλυμα αναφοράς. Εκτός του νερού μπορούν να χρησιμοποιηθούν και άλλοι διαλύτες, όπως TE. Μία μονάδα απορρόφησης στα 260 nm ( $\text{OD}_{260}$ ) ισούται με συγκέντρωση DNA στο παρασκεύασμα 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Επομένως η συγκέντρωση DNA στο αρχικό παρασκεύασμα, από το οποίο ελήφθη ο μικρός όγκος για τη μέτρηση, δίδεται από τον τύπο  $V_{\text{DNA}} = \text{όγκος του δείγματος DNA που αναμίχθηκε με τον διαλύτη (νερό) για τις μετρήσεις} / V_{\text{διαλ}} = \text{όγκος του διαλύτη (νερό στην περίπτωση μας) που αναμίχθηκε με το μικρό δείγμα DNA}$ . Το καθαρό DNA έχει λόγο απορροφήσεων  $\text{OD}_{260} / \text{OD}_{280} = 1.8$ . Μικρότερες τιμές υποδηλώνουν την παρουσία πρωτεϊνών. Ένας λόγος ίσος με 1.5 σημαίνει την παρουσία πρωτεϊνών σε ποσοστό 50%. Η παρουσία πολυσακχαριτών υποδηλώνεται από τον λόγο  $\text{OD}_{260} / \text{OD}_{280}$ . Για καθαρό DNA αυτός είναι ίσος με 2. Μικρότερες τιμές υποδηλώνουν την παρουσία πολυσακχαριτών. Οποιαδήποτε απορρόφηση στα 310 nm υποδηλώνει την παρουσία και άλλων

ουσιών πολυαρωματικών ή με συζυγείς δεσμούς, πιθανώς παρεμποδιστικών των μετέπειτα αντιδράσεων.

Όταν πρόκειται για DNA μεγάλης καθαρότητας, όπως αυτό που απαιτείται για κατασκευή βιβλιοθηκών, είναι συχνά απαραίτητος ο καθαρισμός με φυγοκέντρηση σε CsCl. Μετά την απομάκρυνση των πρωτεϊνών στο στάδιο 4, προστίθεται στο δείγμα CsCl σε τελική συγκέντρωση 1 g/ ml και βρωμιούχο αιθίδιο σε συγκέντρωση 1 μg / ml. Εάν ο όγκος του διαλύματος είναι πολύ μεγάλος για να χωρέσει σε έναν σωλήνα των 10 ml, εκτελέσατε πρώτα τη καθίζηση με αιθανόλη, μέχρι του σταδίου 6, και διαλύστε το ίζημα του DNA σε 1-10 ml TE περιέχουν τις ανωτέρω συγκεντρώσεις CsCl και βρωμιούχου αιθιδίου. Ο όγκος του τελικού παρασκευάσματος πρέπει να προσαρμοσθεί ώστε να χωρά στον διαθέσιμο σωλήνα υπερφυγοκέντρου (1-20 ml).

Εκτελείται φυγοκέντρηση στα 80.000-120.000 xg επί 4-24 h σε κεφαλή με ανασηκωνόμενους σωλήνες.

Μετά το τέλος της φυγοκέντρωσης, με έκθεση του διαφανούς πλαστικού φυγοκεντρικού σωλήνα σε υπεριώδες φως 360 nm, το DNA φαίνεται σαν μία κόκκινη φθορίζουσα ζώνη αιωρούμενη περί το μέσον του σωλήνα. Το τυχόν υπάρχον RNA φθορίζει επίσης κόκκινο σαν ίζημα στον πυθμένα. Οι πολυσακχαρίτες και οι τυχόν εναπομένουσες πρωτεΐνες βρίσκονται στα επάνω στρώματα. Η ζώνη του DNA παραλαμβάνεται από το πλάι, τρυπώντας τον φυγοκεντρικό σωλήνα με μία σύριγγα ευρέος στομίου (19G). Εκτελούνται 2-3 προσεκτικές εκχυλίσεις με ισοπροπανόλη κεκορεσμένη με νερό ώστε να απομακρυνθεί το περισσότερο βρωμιούχο αιθίδιο. Το διάλυμα αραιώνεται με τρεις όγκους TE ή νερού ή υφίσταται διάλυση με 1 L TE ώστε να απομακρυνθεί το CsCl. Εκτελείται καθίζηση με αλκοόλη όπως περιγράφεται στα στάδια 5-7.

### 2.2.2 Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός DNA

Η συγκέντρωση του DNA προσδιορίστηκε σε φασματοφωτόμετρο υπεριώδους/ορατού με απορρόφηση των δειγμάτων στα 260 nm. Ο ποιοτικός προσδιορισμός των δειγμάτων έγινε με απορρόφηση στα 280 nm για να εκτιμηθεί το επίπεδο παρουσίας πρωτεϊνών στο δείγμα από το λόγο 260/280nm. Ο μέσος όρος της συγκέντρωσης του DNA των δειγμάτων, υπολογίστηκε στα 100 ng/μl. Οι παραπάνω εκτιμήσεις, επιβεβαιώθηκαν και με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης 0,8% με πρότυπο δείγμα DNA σαν μάρτυρα.

### 2.2.3 Μοριακή γενετική ανάλυση με δείκτες RAPD's

Σε κάθε Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης (PCR), χρησιμοποιήθηκαν 20 ng γενωμικού DNA σαν μήτρα, 2.5 μl 10x PCR buffer (Minotech), 0.625uM από 10-νουκλεοτιδικό RAPD εκκινητή (Operon Tech.), 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 150 μM dNTPs και 1U Taq DNA πολυμεράσης (Minotech), ενώ η αντίδραση ρυθμίστηκε σε 25 μl τελικό όγκο με αποστειρωμένο και απεσταγμένο νερό (ddH<sub>2</sub>O).

Οι συνθήκες της αντίδρασης PCR ήταν:

1. Προ-αποδιάταξη στους 94 °C για 3 λεπτά.
2. 35 κύκλοι που αποτελούνται από: Αποδιάταξη στους 94 °C για 1 λεπτό. Επικόλληση των εκκινητών στους 45 °C για 1 λεπτό. Επιμήκυνση των αλυσίδων στους 72 °C για 1 λεπτό.
3. Τελική επιμήκυνση των αλυσίδων στους 4 °C για 16 λεπτά.

Τελικά το προϊόν της PCR προστίθεται και αναμιγνύεται με 1/5 του όγκου σε διάλυμα επιφόρτισης, αποτελούμενο από 30-50%

v/v γλυκερόλη. Κατόπιν το δείγμα μεταφέρεται σε μία εμβάθυνση του πήγματος με την βοήθεια μιας μικροπιπέτας.

Η γλυκερόλη χρησιμεύει στο να καταστήσει το δείγμα του DNA βαρύτερο από το διάλυμα ηλεκτροφόρησης, ώστε να επικάθεται εντός της εμβαθύνσεως του πήγματος χωρίς να εξέρχεται. Το κυανό βρωμοφαινόλης είναι μία χρωστική κυανού χρώματος, η οποία κατά την ηλεκτροφόρηση κινείται μπροστά από τα τεμάχια DNA, ώστε να σταματήσουμε την ηλεκτροφόρηση όταν η χρωστική φθάσει στο άλλο άκρο του πήγματος, και να μην χάσουμε κάποιο από τα τεμάχια DNA. Αναλόγως της συγκέντρωσης της αγαρόζης στο πήγμα, τα τεμάχια DNA μεγέθους 200-500 ζευγών βάσεων κινούνται μαζί με το κυανό της βρωμοφαινόλης. Τα ακόμη μικρότερα τεμάχια προηγούνται αυτής. Για ικανοποιητικό διαχωρισμό των DNA, το ποσό πού επιφορτώνεται στην εμβάθυνση δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 10 µg DNA ανά εμβάθυνση διαστάσεων 2 mm x 5 mm x 4 mm.

Εάν θέλουμε να διαχωρίσουμε μεταξύ των τα δύο απλά νήματα ενός DNA, τα οποία μπορεί να διαφέρουν μεταξύ των ως προς το μήκος, πριν την μεταφορά του δείγματος στο πήγμα, πρέπει να διαχωριστούν οι δύο αλυσίδες του DNA. Αυτό επιτυγχάνεται, εάν μετά την προσθήκη του διαλύματος επιφόρτισης προστεθεί στο δείγμα και 1/10 του όγκου 1-3M NaOH, ώστε η τελική συγκέντρωση του NaOH να γίνει 100-300 mM.

Στην περίπτωση αυτή χρησιμοποιείται διάλυμα ηλεκτροφόρησης αποτελούμενο από 36 mM Tris, 36 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 mM EDTA. Εναλλακτικά, και για να αποφευχθεί η επανασύνδεση των δύο αλυσίδων του DNA κατά την ηλεκτροφόρηση των εντός της αγαρόζης, για την ηλεκτροφόρηση μπορεί να χρησιμοποιηθεί αλκαλικό διάλυμα αποτελούμενο από 30 mM NaOH, 50 mM NaCl, 1 mM EDTA. Επειδή η αγαρόζη δεν στερεοποιείται σε τέτοια αλκαλικά διαλύματα, το πήγμα κατασκευάζεται πρώτα με νερό και κατόπιν βυθίζεται για 30' σε διάλυμα ηλεκτροφόρησης. Επειδή το κυανό της βρωμοφαινόλης εξέρχεται του πήγματος κατά την ηλεκτροφόρηση σε τέτοια



αλκαλικά πήγματα, το πήγμα καλύπτεται κατά την ηλεκτροφόρηση με μία γυάλινη πλάκα.

Τα προϊόντα της Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης για κάθε γενότυπο, αναμίχθηκαν με 2μl διαλύματος φόρτωσης και ηλεκτροφορήθηκαν για 1 ώρα σε πηκτή αγαρόζης 1% στην οποία είχε προστεθεί βρωμιούχο αιθίδιο. Μετά το πέρας της ηλεκτροφόρησης, η πηκτή εκτέθηκε σε υπεριώδη ακτινοβολία για την καταγραφή των πολυμορφισμών των δειγμάτων. Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω Primers όλοι τους της εταιρείας Oregon σε διάφορες σειρές. Αναλυτικά οι Primers που χρησιμοποιήθηκαν ήταν οι: OPC1, OPC2, OPC3, OPC5, OPC6, OPC7, OPC8, OPP1, OPP2, OPP3, OPS1, OPS2, OPS3, OPA1, OPA2, OPA3, OPA4, OPA5, OPA6, OPA8, (ΟΧΙ ο Α9), OPA10, OPA11, OPA12, OPA13, OPA14, OPA15, OPA16, OPA17, OPA18, μίγμα 2 primer "receptor". Η τάση ηλεκτροφόρησης ήταν 80V.

### **Ανάλυση ακολουθιών βάσεων.**

Τεμάχια DNA πού διακρίνουν τους γενότυπους υπεβλήθησαν σε ανάλυση των βάσεων των. Ειδικότερα, τα τμήματα DNA απεκόπησαν από το πήγμα με νυστέρι και ενεκλείσθησαν σε σωλήνα από μεμβράνη διάλυσης από κυτταρίνη (Sigma, D-0405) και με πολύ μικρούς πόρους(mesh), ώστε να κατακρατούνται εντός του σωλήνος μόρια μεγέθους >12 kDa. Οι σωλήνες κυτταρίνης με τα τεμάχια αγαρόζης εντός των οποίων ήταν τα τμήματα DNA, υπέστησαν ηλεκτροφόρηση επί 30 min στα 100 V στην ηλεκτροφορετική συσκευή, σε buffer TBE, ώστε το DNA να εκλυθεί από την αγαρόζη και να κατακρατηθεί από τα τοιχώματα της μεμβράνης κυτταρίνης. Η πολικότητα των ηλεκτροδίων ανεστράφη επί 30 δεύτερα, έτσι ώστε το DNA να αποκολληθεί από τη μεμβράνη και το DNA μεταφέρθηκε με μία πιπέτα εντός μικροφυγοκεντρικού σωλήνος. Μετά από μία εκχύλιση με φαινόλη, προσετέθησαν 1/10 του όγκου 3M οξικό νάτριο (pH 5)

και ένας όγκος κρύας ισοπροπανόλης. Μετά από 24 h στους  $-20^{\circ}\text{C}$ , το DNA ανεκτήθη ως ίζημα στα 10.000 xg, 10min φυγοκέντρησης. Το ίζημα πλύθηκε με αιθανόλη, στέγνωσε και διαλύθηκε σε 10  $\mu\text{l}$  buffer TE.

Η ανάλυση των βάσεων των τεμαχίων DNA έγινε με τη μέθοδο των διδεοξυνουκλεοτιδίων και χρήση PCR. Ειδικότερα, οι συνθήκες των αντιδράσεων ανάλυσης της ακολουθίας ήταν ως εξής.

Η αλληλούχιση έγινε σε 66-cm gel ακρυλαμίδης 4,6%.

Οι αντιδράσεις αλληλούχισης πραγματοποιήθηκαν με το Sequitherm EXCELL II DNA Sequencing Kit-LC (66-cm gel) της Epicentre Biotechnologies.

Η συσκευή αλληλούχισης είναι το Li-Cor Long Read IR2 4200.

Η ανάλυση των ακολουθιών έγινε με το πρόγραμμα Li-Cor e-Seq v1.0 (base calling). Οι συνθήκες για το Sequencing PCR ήταν:

1.  $95^{\circ}\text{C}$  5 min
2. 26 κύκλοι των εξής τριών σταδίων:
  - $95^{\circ}\text{C}$  30 sec
  - $40^{\circ}\text{C}$  15 sec
  - $70^{\circ}\text{C}$  1 min

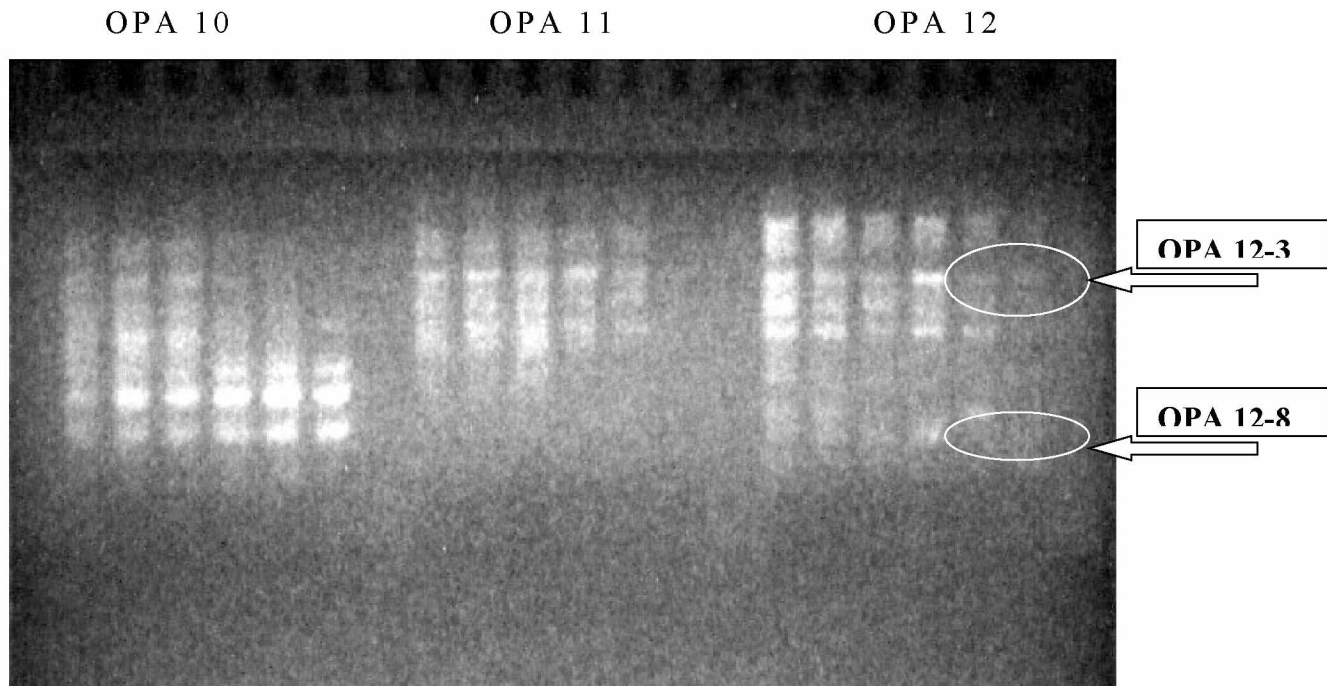
### 3. Αποτελέσματα και Συζήτηση

#### 3.1 Αποτελέσματα μοριακών αναλύσεων

Από την υπάρχουσα βιβλιογραφία όσον αφορά την χρήση μοριακών δεικτών στην τομάτα οι Carelli *et al.* 2006 (Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, R. Francisco Getulio Vargas, 1130, Caxias do Sul, 95001-970, RS, Brazil.), βρήκαν 257 επαναλαμβανόμενες μπάντες από τη χρήση 20 μοριακών δεικτών τύπου RAPD, δουλεύοντας σε παραδοσιακές ποικιλίες της Βραζιλίας, όπου το 78,6% ήταν πολυμορφικοί. Οι Rus-Kortekaas *et al.* 1994 (Centre of Plant Breeding and Reproduction Research (CPRO- DLO), PO Box 16, 6700 AA Wageningen, Netherlands), χρησιμοποιώντας 89 τυχαίους εκκινητές τύπου RAPD σε 3 εμπορικές ποικιλίες τομάτας βρήκαν διαφοροποιήσεις μεταξύ των γενοτύπων σε 85 από αυτούς, ενώ και οι Rom *et al.* 1995 (Department of Plant Genetics, Institute of Field and Garden Crops, Agricultural Research Organization, Volcani Center, POB 6, Bet Dagan 50250, Israel.), κατάφεραν να βρουν διαφορές μεταξύ υβριδίων F<sub>1</sub> τομάτας χρησιμοποιώντας μοριακούς δείκτες τύπου RAPD. Οι Matsui and Yoshida, 1998 ( Faculty of Agriculture, Kagawa University, Kagawa-ken 761-0701, Japan.), δουλεύοντας με 3 ποικιλίες του Μπαγκλαντές και 2 της Ιαπωνίας χρησιμοποίησαν 12 εκκινητές τύπου RAPD από τους οποίους οι 5 εκκινητές έδωσαν 26 πολυμορφισμούς. Οι Villand *et al.* 1998 (Department of Horticulture, 1575 Linden Dr., University of Wisconsin, Madison, WI 53706, USA.), δουλεύοντας με 41 εκκινητές τύπου RAPD σε γενετικό υλικό τομάτας του παλιού και νέου κόσμου βρήκαν 98 πολυμορφισμούς οι οποίοι βοήθησαν στην εύρεση γενετικής συγγένειας μεταξύ 96 γενοτύπων από ένα μεγάλο εύρος γεωγραφικών περιοχών. Οι Noli *et al.* 1999 (Department of Agronomy, University of Bologna, Via Filippo Re 6, 40126 Bologna, Italy), εργαστήκαν με 67 καλλιεργούμενες ποικιλίες τομάτας και 8 άγρια είδη του

γένους *Lycopersicon* (*L. esculentum* var. *cerasiforme*, *L. pimpinellifolium* και *L. peruvianum*) με 6 τυχαίους εκκινητές. Συνολικά κατέγραψαν 104 μπάντες 58 από αυτές πολυμορφικές. Επίσης υπάρχουν αναφορές από τους Chague *et al.* 1997 (*Institut de Biotechnologie des Plantes, Batiment 630, URA CNRS 1128, Universite Paris-Sud, 91405 Orsay cedex, France.*), οι οποίοι χρησιμοποιώντας μοριακούς δείκτες τύπου RAPD κατάφεραν να συνδέσουν γονιδιακούς τόπους με QTLs σε καθарές σειρές τομάτας όπως και οι Foolad *et al.* 1997 (*Department of Horticulture, Pennsylvania State University, 103 Tyson Building, University Park, PA 16802, USA.*), οι οποίοι εργαζόμενοι με RAPD δείκτες σύνδεσαν με QTL την ανθεκτικότητα της τομάτας στην αλατότητα. Οι Staniaszek *et al.* 2000 (*Research Institute of Vegetable Crops, 96-100 Skierniewice, ul. Konstytucji 3-go Maja 1/3, Poland.*), εργαζόμενοι με μοριακούς δείκτες RAPD σε υβρίδια τομάτας κατάφεραν να συνδέσουν 2 εκκινητές (OPW 13 1230 και OPAX 10 780) με το γονίδιο της αρρενοστεριότητας. Οι Saliba-Colombani *et al.* 2000 (*Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), Unite de Genetique et Amelioration des Fruits et Legumes, BP 94-84143 Montfavet, Cedex, France.*), κατάφεραν να φτιάξουν γενετικό χάρτη τομάτας χρησιμοποιώντας 132 RFLP, 33 RAPD και 211 AFLP δείκτες. Επίσης συγκρίναν τους 3 τύπους μοριακών δεικτών μεταξύ τους για τους πολυμορφισμούς και την κατανομή τους στο γένωμα. Οι RFLP, RAPD και AFLP αποκάλυψαν 8.7%, 15.8% και 14.5% μπάντες με πληροφορίες, αντίστοιχα. Οι Staniaszek *et al.* 2002 (*Research Institute of Vegetable Crops, Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice, Poland.*), δουλεύοντας με 5 υβρίδια τομάτας και χρησιμοποιώντας 120 τυχαίους εκκινητές τύπου RAPD, κατάφεραν να βρουν πολυμορφισμούς μόνο με τη βοήθεια των 8 (OPA 09, OPA 13, OPE 10, OPE 11, OPJ 05, OPN 04, OPN06 και OPN 12), μεταξύ των υβριδίων.

Στο δικό μας πείραμα, παρατηρούμε τα εξής:



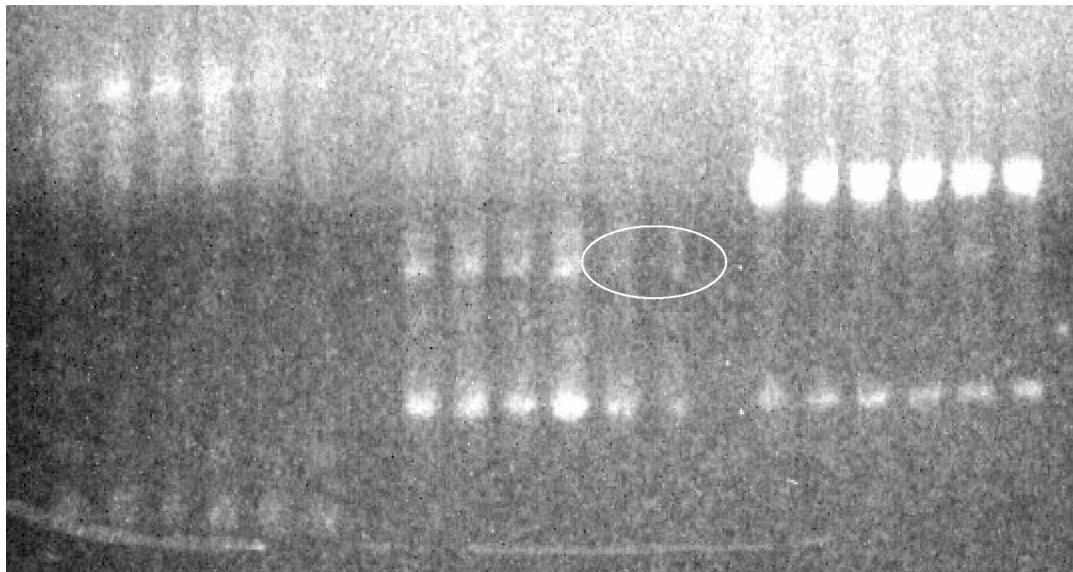
**Εικόνα 1.** Αποτελέσματα Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης (PCR) με τη χρήση των εκκινητών OPA10, OPA11 και OPA12. Οι δύο τελευταίοι γενότυποι σε κάθε σετ (οι ποικιλίες ‘Πράσινη’ και ‘Αρετή’) είχαν ισχυρότερες, από ότι στους άλλους γενότυπους, μερικές από τις μάντες DNA με τον εκκινητή OPA 10, άλλες ασθενέστερες με τον εκκινητή OPA 11 και τέλος άλλες ακόμη ασθενέστερες με τον εκκινητή OPA 12. Ειδικότερα, με τον εκκινητή OPA 12, η τρίτη από πάνω μάντα DNA (OPA 12-3), ήταν πολύ ασθενική στους δύο τελευταίους γενότυπους και η όγδοη από πάνω (OPA 12-8) ήταν σχεδόν απύσα.

Στην εικόνα 2 παρουσιάζονται οι μπάντες που προέκυψαν από την χρήση των εκκινητών OPA13, OPA14 και OPA15. Όπως φαίνεται για τον OPA14 το μεσαίο μπλοκ στην φωτογραφία, στις δύο τελευταίες ποικιλίες Π, Αρ, υπάρχουν ασθενέστερες μπάντες.

OPA 13

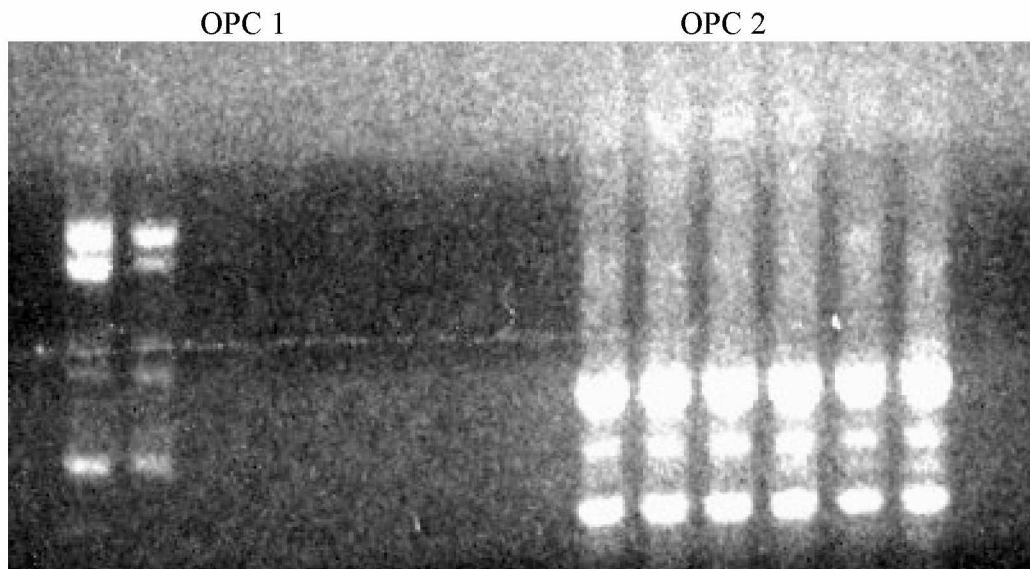
OPA 14

OPA 15



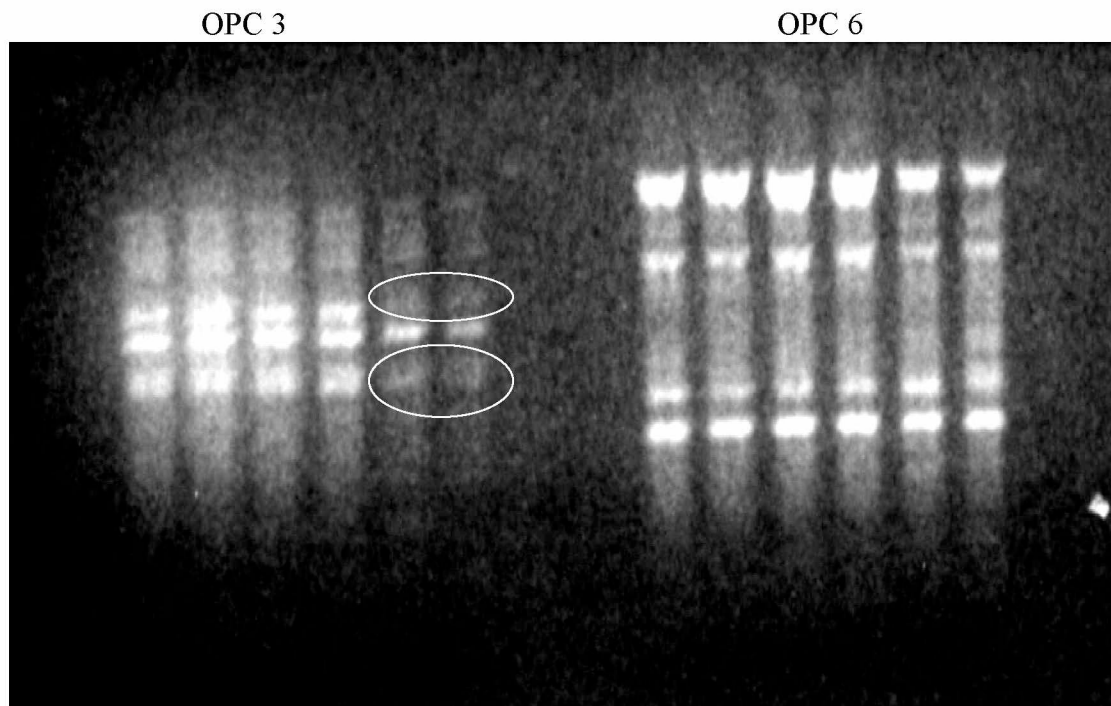
**Εικόνα 2.** Αποτελέσματα Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης (PCR) με τη χρήση των εκκινητών OPA13, OPA14 και OPA15.

Στην εικόνα 3 όπου παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από την χρήση των εκκινητών OPC1 και OPC2 δεν μπορεί κανείς να βγάλει κάποιο ασφαλές συμπέρασμα. Η έλλειψη DNA στους 4 από τους 6 γενότυπους με τον OPC 1 δεν μπορεί να εξηγηθεί ενώ με τον OPC 2 δεν υπάρχουν διαφορές.



**Εικόνα 3.** Αποτελέσματα Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης (PCR) με τη χρήση των εκκινητών OPC1 και OPC2.

Με τον εκκινητή OPC 3 (εικόνα 4), βεβαιώνεται ακόμη μία φορά η διαφορετικότητα των γενοτύπων ‘Πράσινη’ και ‘Αρετή’. Διότι και πάλι οι μπάντες DNA είναι πολύ ασθενέστερες σε αυτούς.



**Εικόνα 4.** Αποτελέσματα Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης (PCR) με τη χρήση των εκκινητών OPC3 και OPC6.



Οι δύο μπάντες DNA που φάνηκαν να διαφέρουν στους 6 γενοτύπους ντομάτας με τον εκκινητή OPA 12 (3 και 8), εκλύθηκαν από το πήγμα αγαρόζης με ηλεκτροέκλυση και υπεβλήθησαν σε ανάλυση των ακολουθιών των βάσεων των.

Η ανάλυση των ακολουθιών 190 βάσεων των DNA OPA 12-3 και OPA 12-8 δίνεται κατωτέρω:

### **OPA 12-3**

```
ctgcccactgctgctccaccctagtaggatccgctatacgcagccctgagtggtgtccgcccc  
ggctccagcaccacgcccttcacctcaggccggtacagccgccccctacgaggccctctgc  
atatgttacarttcagcccccttgccggctctctgctggccccccctcactccacc
```

### **OPA 12-8**

```
Cggaccccagctgctgctccccagttggtaccgctatcccgggcctgaggtgaccgccccg  
gcacagcaccacagtcggccacctcaggccggtacagccccaccacgaggccaccacc  
agccgatgttacaataagcgaaaagggtctctactgcgtggtcctcct
```

Οι συγκρίσεις των ακολουθιών αυτών με τις υπάρχουσες στις βάσεις δεδομένων του National Center for Biotechnology Information, χρησιμοποιώντας την έρευνα τύπου Blast, δίνονται στο Παράρτημα. Από τις συγκρίσεις αυτές εξάγονται τα εξής συμπεράσματα:

Μία περιοχή του OPA 12-3, από τις βάσεις 60 μέχρι και 100, είναι παρόμοια με ακολουθίες ρυθμιστικών γονιδίων τα οποία κωδικοποιούν πρωτεΐνες των οδών μεταγωγής σημάτων, όπως κινάσες πρωτεϊνών, πρωτεΐνες οι οποίες συνδέονται με DNA ή RNA και πρωτεΐνες του μηχανισμού απέκκρισης. Το αποτέλεσμα παρουσιάστηκε και όταν η σύγκριση έγινε μετά από μετάφραση της ακολουθίας του OPA 12-3 σε πιθανή ακολουθία αμινοξέων (translated blast search). Και πάλι προέκυψαν ομοιότητες με πρωτεΐνες οι οποίες αντιδρούν με υποδοχείς, οι οποίοι αντιλαμβάνονται την παρουσία ειδικών χημικών σημάτων στο εξωτερικό του κυττάρου.

Το τεμάχιο OPA 12-8 ήταν πολύ παρόμοιο με το γονίδιο της υπομονάδας II της οξειδάσης του κυτοχρώματος c των μιτοχονδρίων (coxII). Το ένζυμο το κωδικοποιούμενο από το γονίδιο αυτό είναι εξαιρετικά σημαντικό για την ταχύτητα της οξειδωτικής φωσφορυλιώσεως στα μιτοχόνδρια. Τυχόν διαφορές μεταξύ των γενοτύπων στην δομή του ενζύμου αυτού σημαίνει διαφορές στην ικανότητα οξείδωσης των υποστρωμάτων και εκ' τούτου, πιθανότατες διαφορές στην ζωτικότητα των κυττάρων.

## 4. Συμπεράσματα

Είναι φανερό ότι οι γενότυποι 'Πράσινος' και 'Αρετή' διαφέρουν από τους άλλους τέσσερεις. Οι διαφορές στα τμήματα DNA, τα οποία πολλαπλασιάστηκαν με PCR είναι ποσοτικές. Ποσοτική διαφορά σημαίνει ότι πιθανώς η περιοχή προσκόλλησης του εκκινητή είναι διαφορετική στους συγκρινόμενους γενότυπους. Μια ή δύο διαφορετικές βάσεις σε μία περιοχή 10 βάσεων θα μπορούσε να την κάνει σημαντικά ανόμοια προς τον εκκινητή και να δυσκολέψει σημαντικά την προσκόλλησή του σε αυτή, με αποτέλεσμα να παράγεται λιγότερο DNA από τη περιοχή αυτή. Άλλη πιθανή εξήγηση είναι ότι το εξεταζόμενο DNA είναι μέρος ενός πλασμιδίου, ιού ή μεταθετού στοιχείου. Τα γενετικά αυτά στοιχεία ευρίσκονται σε ανόμοιες ποσότητες σε διαφορετικούς γενότυπους.

Μία από τις πιθανές διαφορές των γενοτύπων 'Πράσινος' και 'Αρετή' από τους υπολοίπους, είναι η παρουσία διαφορετικής οξειδάσης του κυτοχρώματος c. Μία άλλη είναι η πιθανή ύπαρξη ενός διαφορετικού πρωτεϊνικού παράγοντος μεταγωγής σημάτων, ο οποίος θα μπορούσε να είναι και μεταγραφικός παράγων, διότι δείχνει ομοιότητες προς πρωτεΐνες δεσμεύουσες DNA.

## Βιβλιογραφία

- Abbot J.K., (1999). Quality measurement of fruit and vegetables. *Postharvest Biology and technology* 15:207-225
- Altukhov Yo. P. και Salmenkova E. A., (2002) DNA polymorphism in population genetics, *Russian Journal of Genetics*, Vol. 38 No. 9
- Archak S., Karihaloo J. K. και Jain A., 2002. RAPD markers reveal narrowing genetic base of Indian tomato cultivars. *Current science*, Vol. 82, No.9: 1139-1143
- Atanassova B., Daskalov S., Shtereva L. & Balatcheva E., 2000. Anthocyanin mutations improving tomato and pepper tolerance to adverse climatic conditions. *Euphytica* 120: 357-365, 2001.
- Backman, K., 2001. The advent of genetic engineering. *Trends Bioch. Sci.* 26:268-270
- Γούλας, Χ. Κ., Μπλέτσος, Φ. Α. και Τράκα-Μαυρωνά, Αικ., 1998. Περιγραφή και αξιολόγηση τοπικής ποικιλίας επιτραπέζιας τομάτας που καλλιεργείται στη Δυτική Θεσσαλία. Πρακτικά 18<sup>ης</sup> Επιστ. Συν. Ελλ. Εταιρ. Επιστ. Των Οπορωκηπευτικών. 5-7/11/1997, Θεσ/νίκη. ΤΟΜ. 7: 294-297
- Causse M., Saliba-Colombani V., Lesschaeve I. & M. Buret, (2001). Genetic analysis of organoleptic quality in fresh market tomato. 2. Mapping QTLs for sensory attributes. *Theor. Appl. Genet.* 102 :273-283
- Chen F. Q., Foolad M. R., Hyman J., St. Clair D. A. & Beelaman R. B., (1999). Mapping of QTLs for lycopene and other fruit traits in a *Lycopersicon esculentum* x *L. pimpinellifolium* cross and comparison of QTLs across tomato species. *Molecular Breeding* 5: 283-299.
- Cohen F. και Nitzany F.E., (1966), Transmission and host range of the tomato yellow leaf curlvirus. *Phytopathology* 56, 1127-1131.
- Cohen, S. και Pilowski, M. (1990). Tolerance to tomato yellow leaf curl virus derived from *Lycopersicon peruvianum*. *Plant Dis.* 74, 248-250.
- Cooley M. B. and Yoder\_ John I., (1998). Insertional inactivation of the tomato polygalacturonase gene. *Plant Molecular Biology* 38: 521-530, 1998.
- Doganlar S., Tanksley S.D. και Mutschler M.A., (2000). Identification and molecular mapping of loci controlling fruit ripening time in tomato *Theor Appl Genet* (2000) 100:249-255
- Egashira H., Ishihara H., Takashina T. & Imanishi S., (2000). Genetic diversity of the 'peruvianum-complex' (*Lycopersicon peruvianum* (L.) Mill. and *L. chilense* Dun.) revealed by RAPD analysis. *Euphytica* 116: 23-31,

- Fasoulas, A. C., (1988). The honeycomb methodology of plant breeding. Ed Thessaloniki, Greece. pp. 167
- Fernandez Ruiz, V., Sanchez Mata, M. C., Camara M. και Torija M. E., (2004). Internal quality characterization of fresh tomato fruits. *HortScience* 39:339-345
- Francis D. M., J. W. Scott, and Miller S. A., 2001. Breeding for resistance to bacterial spot: prospects for marker assisted selection Tomato Breeders Roundtable 2001: 25
- Georgelis N. και Scott J. W., (2004). Relation of tomato fruit sugar concentration with physical and chemical traits and linkage of RAPD markers. *J. AMER. Soc. Hort.Sci.* 129(6):839-845
- Gould W.A., (1992). Tomato production. Processing and technology CTI publications INC.
- Grandillo S., Zamir D. & S. D. Tanksley, (1999). Genetic improvement of processing tomatoes: A 20 years perspective. *Euphytica* 110: 85-97.
- Hanna, G.C., (1971). Breeding tomatoes for mechanical harvesting in California. *Genet Agr* (3-4): 379-390.
- Hanson P. M., Yang R., Wu J., Chen J., Ledesma D. και Tsou S.C.S., 2004. *J. AMER. Soc. Hort. Sci.* 129(5):704-711
- Hyman, J.R., Gaus J., και Foolad M. R., (2004). A Rapid and Accurate Method for Estimating Tomato Lycopene Content by Measuring Chromaticity Values of Fruit Puree. *J. AMER. Soc. Hort. Sci.* 129(5):717-723.2004.
- Ilardi V. and Barba M., (2001). Assessment of functional transgene flow in tomato fields. *Molecular Breeding* 8: 311-315, 2001.
- Jenkins J.A., (1948). The origin of the cultivated tomato. *Econ. Bot.* 2:319-392.
- Καλύβας Α., Τσαυτάρης Α. και Κούτσικα - Σωτηρίου Μ., (2001). Ετέρωση στα αυτογονιμοποιούμενα λαχανοκομικά φυτά. 20<sup>ο</sup> Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρίας της Επιστήμης των Οπωροκηπευτικών 29-1 Νοέμβ. Κύπρος, σελ 374-377
- Κανελλής Α.Κ. και Γερασόπουλος Δ. (2001). Εφαρμογές της βιοτεχνολογίας στη βελτίωση της ποιότητας των οπωροκηπευτικών. 20<sup>ο</sup> Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρίας της Επιστήμης των Οπωροκηπευτικών 29-1 Νοέμβ., 2001. Κύπρος, σελ 29-50
- Kasrawi, M.A. (1989). Inheritance of resistance to tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) in *Lycopersicon pimpinellifolium*. *Plant Dis.* 73, 435-437.
- Khrapalova, I.A. (1999). The Genus *Lycopersicon* (Tourn.)Mill., *Tr. Prikl. Bot., Genet. Sel.*, , vol. 157, pp. 24-55.
- Knaap E., Sanyal A., Jackson S. A. and Tanksley S. D (2004). High-Resolution Fine Mapping and Fluorescence *in Situ* Hybridization Analysis of *sun*, a Locus Controlling Tomato Fruit Shape, Reveals a Region of the Tomato Genome Prone to DNA Rearrangements. *Genetics* 168: 2127-2140

- Kochieva E. Z., Ryzhova N. N., Khrapalova I. A. και Pukhalskyi V. A. (2002). Using RAPD for Estimating Genetic Polymorphism in and Phylogenetic Relationships among Species of the Genus *Lycopersicon*. (Tourn.) Mill. *Russian Journal of Genetics*, Vol. 38, No. 9, 2002, pp. 1104–1108. *Genetika*, Vol. 38, No. 9, 2002, pp. 1298–1303.
- Μπακάλης, Ν. Σ. (1987). Η δυνατότητα σταθεροποίησης της ετέρωσης για απόδοση και στο υβρίδιο τομάτας GC-204. Θεσσαλονίκη, σελ 23
- McNally K.L. & Mutschler M.A. (1997). Use of introgression lines and zonal mapping to identify RAPD markers linked to QTL. *Molecular Breeding* 3: 203–212,
- Meagher, R.B. (2002). Post-genomics networking of biotechnology for interpreting gene function. *Cur. Op. Plant Biol.* 5:135-140
- Mohan M., Nair S., Bhagwatt A., Krishna T.G., Yano M., Bhatia C.R. και Sasaki T. (1997). Genome mapping, molecular markers and marker assisted selection in crop plants. *Molecular Breeding* 3:87-103.
- Moore S, Vrebalov J, Payton P, Giovannonni J. (2002). Use of genomic tools to isolate key ripening genes and analyse fruit maturation in tomato. *Journal of Experimental Botany* 53, 2023–2030.
- Morales F. J. (2001). Breeding for resistance to whitefly-transmitted geminiviruses. Tomato Breeders Roundtable 2001
- Muller, C.H., (1940). A Revision of the Genus *Lycopersicon* USDA Misc. vol. 328, p.29
- Nesbitt T. and Tanksley S. D. (2002). Comparative Sequencing in the Genus *Lycopersicon*: Implications for the Evolution of Fruit Size in the Domestication of Cultivated Tomatoes. *Genetics* 162: 365–379
- Ολύμπιου Μ. Χρίστου (2001). Η τεχνική της καλλιέργειας των κηπευτικών στα θερμοκήπια σελ: 41
- Osterlund, M. T., και Paterson, A. H. (2002). Applied plant genomics: the secret is integration. *Cur. Op. Plant Biol.* 5: 141-145
- Πάσσαμ, Χ. Κ. (1994). Εργαστήριο κηπευτικών καλλιεργειών Γεωργικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Φυσιολογία και Τεχνολογία Πολλαπλασιαστικού Υλικού Κηπευτικών (σημειώσεις), σελ. 175 – 190.
- Park Y.H., West M.A.L., and Clair D. A. St. (2004). Evaluation of AFLPs for ermplasm fingerprinting and assessment of genetic diversity in cultivars of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). *Genome* 47: 510–518
- Poysa C. H.V. · Yu K. (2003). Development and characterization of simple sequence repeat (SSR) markers and their use in determining relationships among *Lycopersicon esculentum* cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 106:363.373

- Rick C.M. (1978). The role of natural hybridization in the derivation of cultivated tomatoes of western South America. *Econ. Bot.* 12:346-367.
- Rick C.M. (1973). Potential genetic resources in tomato species: clues from observations in native habitats. In A.M. Srb (ed) *Genes, enzymes, and populations*. Plenum Press, New York.
- Scott W.J. (2001). Geminivirus resistance derived from *Lycopersicon chilense* accessions LA 1932, LA 1938, AND LA 2779. *Tomato Breeders Roundtable*, 2001.
- Scott J.W. (1999). University of Florida tomato breeding accomplishments and future directions. *Soil Crop Sci. Soc. Florida Proc.* 58:8-11.
- Scott, J.W., S. A. Miller, R. A. Stall, J. B. Jones, G. C. Somodi, V. Barbosa, D.M. Francis, F.Sahin (1997). *Hort Science* 32:724-727.
- Tigchelaar, E.C. (1986). Genetic improvement of tomato nutritional quality. Horticulture and human health. Proc. of the first 1<sup>st</sup> Int. symposium on horticulture and human health. Alrlington, Va. 12-15 April 1987. P. 185-190.
- Tör M., Manning K., King G.J., Thompson A.J. Jones G.H., G.B. Seymour και Armstrong S.J., 2002. Genetic analysis and FISH mapping of the Colourless non-ripening locus of tomato. *Theor Appl Genet* (2002) 104:165–170
- Φασούλας, Α. Η βελτίωση των φυτικών γενετικών πόρων: Επιτεύγματα και Προοπτικές. σελ.7-16.
- Χριστάκης, Α. Παναγιώτης, (1993). Επιλογή για δημιουργία νέων σειρών επιτραπέζιας τομάτας. Σελ 176-185
- Vavilov, N.I. (1926). Studies on the origin of cultivated plants. *Bull. of Applied Botany and Plant Breeding* 16:139-245.
- Villand, J., Skroch, P. W., Hanson, Lai T., Kuo, P., Nienhuis, C. G. (1998). Genetic variation among tomato accessions from primary and secondary centers of diversity. *Crop Sci.* 38:1339-1347
- Walker R. and Stevens M. (2001). In Search of Breeder-friendly Markers Linked to *Frl*.  
Tomato Breeders' Round Table 2001
- Zhang H-B., Budiman M.A. και Wing R.A. (2000). Genetic mapping of jointless-2 to tomato chromosome 12 using RFLP and RAPD markers. *Theor Appl Genet* (2000) 100:1183–1189
- Zeven, A.C., and J.M.J. de Wet (1982). Dictionary of cultivated plants and their regions of diversity. Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, the Netherlands.

[SO: \*Theoretical-and-Applied-Genetics\*. 1991; 83\(1\): 108-114](#)

[SO: \*Genetic-Resources-and-Crop-Evolution\*. 2006; 53\(2\): 395-400](#)

[SO: \*Acta-Horticulturae\*. 2005; \(695\): 407-416](#)

[SO: Genome-. 1994; 37\(3\): 375-381](#)  
[SO: Plant-Breeding. 1995; 114\(2\): 188-190](#)  
[SO: Technical-Bulletin-of-the-Faculty-of-Agriculture,-Kagawa-University. 1998; 50\(1\): 33-40](#)  
[SO: Crop-Science. 1998; 38\(5\): 1339-1347](#)  
[SO: Seed-Science-and-Technology. 1999; 27\(1\): 1-10](#)  
[SO: Theoretical-and-Applied-Genetics. 1997; 95\(4\): 671-677](#)  
[SO: Plant-Cell-Reports. 1997; 17\(4\): 306-312](#)  
[SO: Acta-Physiologiae-Plantarum. 2000; 22\(3\): 303-306](#)  
[SO: Genome-. 2000; 43\(1\): 29-40](#)  
[SO: Vegetable-Crops-Research-Bulletin. 2002; 56: 17-23](#)





## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

### OPA 12-3 blast search

#### ***Nucleotide blast search***

Ctgccccactgctgctccaccctagtaggatccgctatacgcagccctgagtggtgctccgccccggctccagcaccacgcc  
cttcacctcaggccggtacagccgccccctacgaggccctctgcatatggttacarttcagcccccttgcggctctctgctgg  
tccccctcactccacc

>  [gb|CP000113.1](#)  Myxococcus xanthus DK 1622, complete genome  
Length=9139763

alignments for this subject sequence by: Sort  
E value  
Score Percent identity  
Query  
start position Subject start position

Features in this part of subject sequence:  
[tetraatricopeptide repeat/ClpX C4-type zinc finger protein](#)

Score = 42.8 bits (46), Expect = 0.40  
Identities = 33/39 (84%), Gaps = 3/39 (7%)  
Strand=Plus/Plus

Query	57	CCGCCCCGGCTCCAG---CACCACGCCCTTCACCTCAGG	92
Sbjct	5176741	CCGCCCCGGCTCCAGGGCCACCACGCCCTTCACGTCAGG	5176779

Features in this part of subject sequence:  
[sensor histidine kinase](#)


Score = 41.0 bits (44), Expect = 1.4  
Identities = 43/53 (81%), Gaps = 3/53 (5%)  
Strand=Plus/Plus

Query	59	GCCCCGGCTCCAGCACCACGCCCTTCACCTCAGGCCG-GTACAGC-CGCCCCC	
	109		
Sbjct	9023437	GCCCCTGCTCCAGCACCACGCGGCCACCTC-GTCCGAGGACAGCGCGCCGCC	
	9023488		

Features in this part of subject sequence:  
[putative general secretion pathway protein L](#)


Score = 39.2 bits (42), Expect = 4.9  
Identities = 23/24 (95%), Gaps = 0/24 (0%)  
Strand=Plus/Plus

```
Query 63      CGGCTCCAGCACCCACGCCCTTCAC 86
           || |||
Sbjct 2915099 CGCCTCCAGCACCCACGCCCTTCAC 2915122
```

> [gb|AC107819.8](#)  Mus musculus chromosome 9, clone RP23-158E1, complete sequence  
Length=172309


Score = 42.8 bits (46), Expect = 0.40  
Identities = 23/24 (95%), Gaps = 0/24 (0%)  
Strand=Plus/Minus

```
Query 114     AGGCCCTCTGCATATGTTACARTT 137
           |||
Sbjct 138807  AGGCCCTCTGCATATGTTACAGTT 138784
```

> [emb|CT009577.5](#)  Mouse DNA sequence from clone RP23-24C24 on chromosome 16, complete sequence  
Length=258862

Score = 42.8 bits (46), Expect = 0.40  
Identities = 23/24 (95%), Gaps = 0/24 (0%)  
Strand=Plus/Plus

```
Query 114     AGGCCCTCTGCATATGTTACARTT 137
           |||
Sbjct 251293  AGGCCCTCTGCATATGTTACAGTT 251316
```

> [gb|AC159901.2](#)  Mus musculus BAC clone RP23-100I17 from chromosome 9, complete sequence  
Length=200181

Score = 42.8 bits (46), Expect = 0.40  
Identities = 23/24 (95%), Gaps = 0/24 (0%)  
Strand=Plus/Plus

```
Query 114     AGGCCCTCTGCATATGTTACARTT 137
           |||
Sbjct 158810  AGGCCCTCTGCATATGTTACAGTT 158833
```

> [gb|AF153678.1|AF153678](#) Myxococcus xanthus lipolic acid synthetase precursor, lipoamide acyltransferase, and lipoate-protein ligase B genes, complete cds; and unknown genes  
Length=5718

Score = 42.8 bits (46), Expect = 0.40  
Identities = 33/39 (84%), Gaps = 3/39 (7%)  
Strand=Plus/Minus

```
Query  57      CCGCCCCGGCTCCAG---CACCACGCCCTTCACCTCAGG  92
          ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct  2028    CCGGCCCGGCTCCAGGGCCACCACGCCCTCACGTCAGG  1990
```

> [emb|BX470174.9|](#) Mouse DNA sequence from clone RP23-354A24 on chromosome 4, complete sequence  
Length=107302

Score = 42.8 bits (46), Expect = 0.40  
Identities = 23/24 (95%), Gaps = 0/24 (0%)  
Strand=Plus/Minus

```
Query  114     AGGCCCTCTGCATATGTTACARTT  137
          ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct  95038    AGGCCCTCTGCATATGTTACAGTT  95015
```

> [gb|AC160562.2|](#) Mus musculus BAC clone RP23-9A12 from chromosome 9, complete sequence  
Length=241034

Score = 41.0 bits (44), Expect = 1.4  
Identities = 24/25 (96%), Gaps = 0/25 (0%)  
Strand=Plus/Plus

```
Query  62      CCGGCTCCAGCACCACGCCCTTCAC  86
          ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct  468      CCGGCTCCAGGACCACGCCCTTCAC  492
```

> [gb|AC160394.2|](#) Mus musculus BAC clone RP23-116C19 from chromosome 9, complete sequence  
Length=201200

Score = 41.0 bits (44), Expect = 1.4  
Identities = 24/25 (96%), Gaps = 0/25 (0%)  
Strand=Plus/Plus

```
Query  62      CCGGCTCCAGCACCACGCCCTTCAC  86
          ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct  157307    CCGGCTCCAGGACCACGCCCTTCAC  157331
```

> [gb|AC166643.7|](#) Mus musculus chromosome 18, clone RP24-241J8, complete sequence  
Length=173501

Score = 39.2 bits (42), Expect = 4.9  
Identities = 21/21 (100%), Gaps = 0/21 (0%)  
Strand=Plus/Plus

```
Query  114     AGGCCCTCTGCATATGTTACA  134
          ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct  19357    AGGCCCTCTGCATATGTTACA  19377
```

> [ref|NM\\_200560.1|](#) **UG** Danio rerio zgc:66110 (zgc:66110), mRNA  
[gb|BC056571.1|](#) **UG** Danio rerio zgc:66110, mRNA (cDNA clone  
MGC:66110 IMAGE:6800295),  
complete cds  
Length=1866

Score = 39.2 bits (42), Expect = 4.9  
Identities = 21/21 (100%), Gaps = 0/21 (0%)  
Strand=Plus/Plus

```
Query 1 CTGCCCACTGCTGCTCCACCC 21
      |||
Sbjct 493 CTGCCCACTGCTGCTCCACCC 513
```

> [emb|BX024352.1|CNS08QYC](#) **U** Single read from an extremity of a  
full-length cDNA clone made  
from Anopheles gambiae total adult females. 5-PRIME end of  
clone FK0AAA37AE10 of strain 6-9 of Anopheles gambiae (African  
malaria mosquito)  
Length=753

Score = 39.2 bits (42), Expect = 4.9  
Identities = 26/28 (92%), Gaps = 1/28 (3%)  
Strand=Plus/Minus

```
Query 67 TCCAGCACCCACGCCCTTCACCTCAGGCC 94
      |||||
Sbjct 399 TCCACCACCCACGCCCTTCACC-CAGGCC 373
```

> [gb|AC104867.18|](#) **D** Mus musculus chromosome 18, clone RP24-  
320L19, complete sequence  
Length=148876

Score = 39.2 bits (42), Expect = 4.9  
Identities = 21/21 (100%), Gaps = 0/21 (0%)  
Strand=Plus/Minus

```
Query 114 AGGCCCTCTGCATATGTTACA 134
      |||
Sbjct 18347 AGGCCCTCTGCATATGTTACA 18327
```

> [ref|NT\\_022517.17|Hs3\\_22673](#) **D** Homo sapiens chromosome 3 genomic  
contig, reference assembly  
Length=66080833

Features flanking this part of subject sequence:  
[8131 bp at 5' side: downregulated in renal cell carcinoma](#)  
[56256 bp at 3' side: family with sequence similarity 3, member D](#)

Score = 37.4 bits (40), Expect = 5.1  
Identities = 30/36 (83%), Gaps = 3/36 (8%)  
Strand=Plus/Plus

```
Query 50          GTGTTGTCCGCCCCGGCTCCAGCACCACGCCCTTCA 85
                |||||  |||  |||||  |||||  |||||
Sbjct 58503758    GTGTTG---GCCCTGGCTCCAGCACCAGCCCTTCA 58503790
```

>  [ref|NT\\_005403.16|Hs2\\_5560](#)  Homo sapiens chromosome 2 genomic contig, reference assembly  
Length=84213157

Features flanking this part of subject sequence:  
[86196 bp at 5' side: similar to chromobox homolog 3](#)  
[241785 bp at 3' side: similar to ATP synthase alpha chain, mitochondrial precursor](#)

Score = 37.4 bits (40), Expect = 5.1  
Identities = 23/25 (92%), Gaps = 0/25 (0%)  
Strand=Plus/Plus

```
Query 49          AGTGTGTCCGCCCCGGCTCCAGCA 73
                |||||  ||  |||||  |||||  |||||
Sbjct 6093799    AGTGTTGACCTCCCCGGCTCCAGCA 6093823
```

>  [ref|NT\\_022184.14|Hs2\\_22340](#)  Homo sapiens chromosome 2 genomic contig, reference assembly  
Length=68373980

	Sort
alignments for this subject sequence by:	E value
<a href="#">Score</a> <a href="#">Percent identity</a>	<a href="#">Query</a>
<a href="#">start position</a> <a href="#">Subject start position</a>	

Features in this part of subject sequence:  
[UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine:polypeptide N-acetylga...](#)

Score = 37.4 bits (40), Expect = 5.1  
Identities = 23/25 (92%), Gaps = 0/25 (0%)  
Strand=Plus/Minus

```
Query 151          GGCTCTCTGCTGGTcccccccTCAC 175
                |||||  |||||  |||||  |||||
Sbjct 10162811    GGCTCTCTGCTGGCCCCCTCCCTCAC 10162787
```

Features in this part of subject sequence:  
[potassium channel modulatory factor 1](#)

Score = 37.4 bits (40), Expect = 5.1

Identities = 23/25 (92%), Gaps = 0/25 (0%)  
Strand=Plus/Minus

```
Query 57          CCGCCCCGGCTCCAGCACCACGCCC 81
                ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 64014753    CCGCCCCGCTCCAGCACCAGGCC 64014729
```

> [ref|NW\\_921651.1|HsCraAADB02\\_127](#) D Homo sapiens chromosome 3  
genomic contig, alternate assembly  
(based on Celera assembly)  
Length=75540080

Features flanking this part of subject sequence:  
[8133 bp at 5' side: downregulated in renal cell carcinoma](#)  
[56257 bp at 3' side: family with sequence similarity 3, member D](#)

Score = 37.4 bits (40), Expect = 5.1  
Identities = 30/36 (83%), Gaps = 3/36 (8%)  
Strand=Plus/Plus

```
Query 50          GTGTTGTCGCCCCGGCTCCAGCACCACGCCCTTCA 85
                ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 58577142    GTGTTG---GCCCTGGCTCCAGCACCAGCCCTTCA 58577174
```

> [ref|NW\\_921585.1|HsCraAADB02\\_121](#) D Homo sapiens chromosome 2  
genomic contig, alternate assembly  
(based on Celera assembly)  
Length=63105981

Features flanking this part of subject sequence:  
[86311 bp at 5' side: similar to chromobox homolog 3](#)  
[241697 bp at 3' side: similar to ATP synthase alpha chain, mitochondrial precursor](#)

Score = 37.4 bits (40), Expect = 5.1  
Identities = 23/25 (92%), Gaps = 0/25 (0%)  
Strand=Plus/Plus

```
Query 49          AGTGTGTCGCCCCGGCTCCAGCA 73
                ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| ||| |||
Sbjct 23687701    AGTGTGACCTCCCCGGCTCCAGCA 23687725
```

> [ref|NW\\_927719.1|HsCraAADB02\\_69](#) D Homo sapiens chromosome 2  
genomic contig, alternate assembly  
(based on Celera assembly)  
Length=86821413

Features in this part of subject sequence:  
[UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine:polypeptide N-acetylga...](#)

Score = 37.4 bits (40), Expect = 5.1  
Identities = 23/25 (92%), Gaps = 0/25 (0%)  
Strand=Plus/Minus

```
Query 151          GGCTCTCTGCTGGTcccccccTCAC 175
                |||
Sbjct 31121530    GGCTCTCTGCTGGCCCTCCCTCAC 31121506
```

---

Database: All GenBank+EMBL+DDBJ+PDB sequences (but no EST, STS, GSS, environmental samples or phase 0, 1 or 2 HTGS sequences)

Posted date: Apr 24, 2007 5:51 PM

Number of letters in database: -988,346,178

Number of sequences in database: 5,214,869

Lambda K H  
0.635 0.408 0.914

Gapped  
Lambda K H  
0.635 0.408 0.914

Matrix: blastn matrix:2 -3

Gap Penalties: Existence: 5, Extension: 2

Number of Sequences: 5214869

Number of Hits to DB: 1219560

Number of extensions: 70753

Number of successful extensions: 2409

Number of sequences better than 10: 0

Number of HSP's better than 10 without gapping: 0

Number of HSP's gapped: 2409

Number of HSP's successfully gapped: 0

Length of query: 181

Length of database: 20486490298

Length adjustment: 33

Effective length of query: 148

Effective length of database: 20314399621

Effective search space: 3006531143908

Effective search space used: 3006531143908

A: 0

X1: 22 (20.2 bits)

X2: 33 (29.8 bits)

X3: 55 (49.6 bits)

S1: 27 (25.6 bits)

S2: 41 (38.3 bits)

[NCBI](#) | [NLM](#) | [NIH](#) | [DHHS](#)

[Copyright](#) | [Disclaimer](#) | [Privacy](#) | [Accessibility](#) | [Contact](#) | [Send feedback on new interface](#)

## Translated blast search

> [ref|XP\\_395173.2|](#) **UG** PREDICTED: similar to synaptojanin CG6562-PB, isoform B [Apis mellifera]  
Length=1152

Score = 37.0 bits (84), Expect = 0.34  
Identities = 19/48 (39%), Positives = 23/48 (47%), Gaps = 0/48 (0%)  
Frame = +3

```
Query 30 SAIRSPECCPPRLQHHALHLRPVQPPPTRPSAYVTXQPPLRLSAGPPL 173
          S+ RSP PP L P PPP P++ V P R S GPP+
Sbjct 1099 SSNRSPSSKPPPLPQRQAPPPPQHPPPIILPTSNVPPPIPARTSGGPPI 1146
```

> [ref|XP\\_001230721.1|](#) **G** ENSANGP00000031521 [Anopheles gambiae str. PEST]  
[gb|EAU77389.1|](#) **G** ENSANGP00000031521 [Anopheles gambiae str. PEST]  
Length=158

Score = 35.8 bits (81), Expect = 0.76  
Identities = 22/56 (39%), Positives = 25/56 (44%), Gaps = 3/56 (5%)  
Frame = +3

```
Query 12 CSTLVGSAIRSPECCPPRLQHHALHLRPVQPPPTRPSAYVTXQPPLRLSAGPPLTP 179
          C L A P PP +Q RP PPPT+P + QPP R S PP P
Sbjct 60 CGRLWVIAPPLPPPTPPSVQPPT---RPSVPPPTQPPTPPSVQPPTRPSVPPPTQP 112
```

Score = 34.7 bits (78), Expect = 1.7  
Identities = 18/41 (43%), Positives = 21/41 (51%), Gaps = 3/41 (7%)  
Frame = +3

```
Query 57 PPRLQHHALHLRPVQPPPTRPSAYVTXQPPLRLSAGPPLTP 179
          PP +Q RP PPPT+P + QPP R S PP P
Sbjct 95 PPSVQPPT---RPSVPPPTQPPTPPSVQPPTRPSVPPPTPP 132
```

Score = 33.5 bits (75), Expect = 3.8  
Identities = 20/46 (43%), Positives = 21/46 (45%), Gaps = 4/46 (8%)  
Frame = +3



```
Query 42 SPECCPPRLQHHALHLRPVQPPPTRPSAYVTXQPPLRLSAGPPLTP 179
          SP C P L + P PPPT PS QPP R S PP P
Sbjct 51 SPPCQYPFLCGRLWVIAPPLPPPTPPSV----QPPTRPSVPPPTQP 92
```


Score = 33.5 bits (75), Expect = 3.8  
Identities = 18/41 (43%), Positives = 20/41 (48%), Gaps = 3/41 (7%)  
Frame = +3

```
Query 57 PPRLQHHALHLRPVQPPPTRPSAYVTXQPPLRLSAGPPLTP 179
          PP +Q RP PPPT P + QPP R S PP P
```




Sbjct 115 PPSVQPPT---RPSVPPPTPPPTPPSVQPPTRPSVPPPTQP 152

>  [ref|XP\\_797085.1](#)  PREDICTED: similar to LIM and SH3 protein [Strongylocentrotus purpuratus]

[ref|XP\\_001176273.1](#)  PREDICTED: similar to LIM and SH3 protein [Strongylocentrotus purpuratus]  
Length=249



Score = 35.0 bits (79), Expect = 1.3  
Identities = 15/26 (57%), Positives = 18/26 (69%), Gaps = 0/26 (0%)  
Frame = +3

Query 93 PVQPPPTRPSAYVTXQPPLRLSAGPP 170  
P QPPP +P+A V PP +LSA PP  
Sbjct 161 PYQPPPPQPAAPVQPPPPQQLSAPPP 186

>  [emb|CAM37867.1](#) RNA-binding protein, putative [Leishmania braziliensis]  
Length=303

Score = 34.7 bits (78), Expect = 1.7  
Identities = 19/45 (42%), Positives = 25/45 (55%), Gaps = 9/45 (20%)  
Frame = +3

Query 27 GSAIRSPECC--PPRLQHHALHRLRPVQPPPTRPSAYVTXQPPLRL 155  
G+ ++SP+ P + Q H LHL+P QPPP P PP RL  
Sbjct 178 GAHLQSPQSFHQPPQYQEHQLHLQPYQPPPPPP-----PPPR 215



>  [ref|XP\\_988519.1](#)  PREDICTED: hypothetical protein [Mus musculus]  
Length=655

Score = 34.3 bits (77), Expect = 2.2  
Identities = 15/38 (39%), Positives = 21/38 (55%), Gaps = 0/38 (0%)  
Frame = +3

Query 57 PPRLQHHALHRLRPVQPPPTRPSAYVTXQPPLRLSAGPP 170  
PP + + PV+PP +RPS+ V+ P R S PP  
Sbjct 439 PPHSGVYQSAISPVRPPSSRPSSQVSKTTPTRASTSPP 476

Score = 34.3 bits (77), Expect = 2.2  
Identities = 15/38 (39%), Positives = 21/38 (55%), Gaps = 0/38 (0%)  
Frame = +3

Query 57 PPRLQHHALHRLRPVQPPPTRPSAYVTXQPPLRLSAGPP 170  
PP + + PV+PP +RPS+ V+ P R S PP  
Sbjct 494 PPHSGVYQSAISPVRPPSSRPSSQVSKTTPTRASTSPP 531

>  [ref|XP\\_963206.1](#)  hypothetical protein [Neurospora crassa OR74A]

[gb|EAA33970.1|](#) **G** predicted protein [Neurospora crassa]  
[emb|CAE75735.1|](#) **G** hypothetical protein [Neurospora crassa]  
Length=1395

Score = 34.3 bits (77), Expect = 2.2  
Identities = 16/41 (39%), Positives = 22/41 (53%), Gaps = 2/41 (4%)  
Frame = +3

```
Query 57 P P R L Q H H A L H L R P V Q P P P T R P S A Y V T X Q P P L R L S A G P P L T P 179
          P ++Q HA+ RP QPPP +P + Q + P P L P
Sbjct 561 P Q Q V Q Q H A V V T R P P Q P P P M K P Q V L I P P Q T G Q H Y A -- P P L Q P 599
```

> [gb|EAY94084.1|](#) hypothetical protein OsI\_015317 [Oryza sativa  
(indica cultivar-group)]  
Length=117

Score = 33.9 bits (76), Expect = 2.9  
Identities = 17/41 (41%), Positives = 20/41 (48%), Gaps = 0/41 (0%)  
Frame = +3

```
Query 57 P P R L Q H H A L H L R P V Q P P P T R P S A Y V T X Q P P L R L S A G P P L T P 179
          P P + + H L P + P P P R S T P L A P P P
Sbjct 33 P P K T K E H R L P S H P D K P P P N R N S H T K T N T P R T P L Y A P P P P L P 73
```

> [ref|XP\\_001100416.1|](#) **UG** PREDICTED: Sec23-interacting protein  
p125 isoform 2 [Macaca mulatta]  
Length=924

Score = 33.5 bits (75), Expect = 3.8  
Identities = 17/48 (35%), Positives = 22/48 (45%), Gaps = 0/48 (0%)  
Frame = +3

```
Query 27 G S A I R S P E C C P P R L Q H H A L H L R P V Q P P P T R P S A Y V T X Q P P L R L S A G P P 170
          G S + + P P P + L Q P P P P + P + P P L P P
Sbjct 188 G S S R A N P Y I A P P Q L Q C Q T P G P P A H P P P S G P P V Q M Y Q M P P G S L P P V P P 235
```

> [ref|XP\\_001100330.1|](#) **UG** PREDICTED: Sec23-interacting protein  
p125 isoform 1 [Macaca mulatta]  
Length=826

Score = 33.5 bits (75), Expect = 3.8  
Identities = 17/48 (35%), Positives = 22/48 (45%), Gaps = 0/48 (0%)  
Frame = +3



```
Query 27 G S A I R S P E C C P P R L Q H H A L H L R P V Q P P P T R P S A Y V T X Q P P L R L S A G P P 170
          G S + + P P P + L Q P P P P + P + P P L P P
Sbjct 188 G S S R A N P Y I A P P Q L Q C Q T P G P P A H P P P S G P P V Q M Y Q M P P G S L P P V P P 235
```

> [ref|XP\\_001100615.1|](#) **UG** PREDICTED: Sec23-interacting protein  
p125 isoform 3 [Macaca mulatta]  
Length=1000

Score = 33.5 bits (75), Expect = 3.8







SP PP AL P+Q PP+ P A + Q P SA PP++P  
Sbjct 596 SPLAKPPPQAPPALATPPLQAPPS-PPASLPEQAPFSPSASPPMSP 640

>  [emb|CAE02915.3](#)  OSJNBb0108J11.7 [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]  
[gb|EAZ30716.1](#) hypothetical protein OsJ\_014199 [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]  
Length=117



Score = 33.1 bits (74), Expect = 4.9  
Identities = 17/41 (41%), Positives = 20/41 (48%), Gaps = 0/41 (0%)  
Frame = +3

Query 57 PPRLQHHLALHLPVQPPPTTRPSAYVTXQPPLRLSAGPPLTP 179  
PP+ + H L P +PPP R S T P L A PP P  
Sbjct 33 PPKTKEHRLPSHPDKPPPYRNSHTKTNTPRTPLYAPPPPLP 73

>  [emb|CAI12344.2](#)  WNK lysine deficient protein kinase 2 [Homo sapiens]  
[emb|CAI14449.2](#)  WNK lysine deficient protein kinase 2 [Homo sapiens]  
[emb|CAH73069.2](#)  WNK lysine deficient protein kinase 2 [Homo sapiens]  
Length=2245



Score = 32.7 bits (73), Expect = 6.4  
Identities = 18/44 (40%), Positives = 20/44 (45%), Gaps = 4/44 (9%)  
Frame = +3

Query 54 CPPRLQHH----ALHLPVQPPPTTRPSAYVTXQPPLRLSAGPPL 173  
CPP LQ H A+ PV PPP+ P QP PPL  
Sbjct 677 CPPSLQQHFPDPAMSEFAPVLPVPPSTPMPTGPGQPAPPGQQPPPL 720

>  [gb|EAW62859.1](#)  WNK lysine deficient protein kinase 2, isoform CRA\_c [Homo sapiens]  
Length=2217

Score = 32.7 bits (73), Expect = 6.4  
Identities = 18/44 (40%), Positives = 20/44 (45%), Gaps = 4/44 (9%)  
Frame = +3

Query 54 CPPRLQHH----ALHLPVQPPPTTRPSAYVTXQPPLRLSAGPPL 173  
CPP LQ H A+ PV PPP+ P QP PPL  
Sbjct 691 CPPSLQQHFPDPAMSEFAPVLPVPPSTPMPTGPGQPAPPGQQPPPL 734

>  [gb|EAW62860.1](#)  WNK lysine deficient protein kinase 2, isoform CRA\_d [Homo sapiens]  
Length=2210

Score = 32.7 bits (73), Expect = 6.4  
Identities = 18/44 (40%), Positives = 20/44 (45%), Gaps = 4/44 (9%)  
Frame = +3

```

Query 54 CPPRLQHH----ALHLRPVQPPPTRPSAYVTXQPPLRLSAGPPL 173
          CPP LQ H A+ PV PPP+ P QP PPL
Sbjct 677 CPPSLQQHFPDPAMSFAPVLPFPSTPMPTGPGQPAPPGQQPPPL 720

```

> [gb|EAW62858.1|](#) **G** WNK lysine deficient protein kinase 2, isoform CRA\_b [Homo sapiens]  
Length=2216

Score = 32.7 bits (73), Expect = 6.4  
Identities = 18/44 (40%), Positives = 20/44 (45%), Gaps = 4/44 (9%)  
Frame = +3

```

Query 54 CPPRLQHH----ALHLRPVQPPPTRPSAYVTXQPPLRLSAGPPL 173
          CPP LQ H A+ PV PPP+ P QP PPL
Sbjct 691 CPPSLQQHFPDPAMSFAPVLPFPSTPMPTGPGQPAPPGQQPPPL 734

```

> [gb|EAW62857.1|](#) **G** WNK lysine deficient protein kinase 2, isoform CRA\_a [Homo sapiens]  
Length=2296

Score = 32.7 bits (73), Expect = 6.4  
Identities = 18/44 (40%), Positives = 20/44 (45%), Gaps = 4/44 (9%)  
Frame = +3

```

Query 54 CPPRLQHH----ALHLRPVQPPPTRPSAYVTXQPPLRLSAGPPL 173
          CPP LQ H A+ PV PPP+ P QP PPL
Sbjct 691 CPPSLQQHFPDPAMSFAPVLPFPSTPMPTGPGQPAPPGQQPPPL 734

```

> [ref|NP\\_006639.3|](#) **UG** WNK lysine deficient protein kinase 2 [Homo sapiens]  
Length=2217

Score = 32.7 bits (73), Expect = 6.4  
Identities = 18/44 (40%), Positives = 20/44 (45%), Gaps = 4/44 (9%)  
Frame = +3

```

Query 54 CPPRLQHH----ALHLRPVQPPPTRPSAYVTXQPPLRLSAGPPL 173
          CPP LQ H A+ PV PPP+ P QP PPL
Sbjct 691 CPPSLQQHFPDPAMSFAPVLPFPSTPMPTGPGQPAPPGQQPPPL 734

```

> [emb|CAH91796.1|](#) hypothetical protein [Pongo pygmaeus]  
Length=1028

Score = 32.7 bits (73), Expect = 6.4  
Identities = 17/48 (35%), Positives = 21/48 (43%), Gaps = 0/48 (0%)  
Frame = +3

```

Query 27 GSAIRSPECCPPRLQHHALHLRPVQPPPTRPSAYVTXQPPLRLSAGPP 170
          GS+ +P PP+LQ P PPP P + PP L PP
Sbjct 217 GSSRANPYIAPPQLQQCQTPGPPAHPPPCGPPVQMYQMPPGSLPPVPP 264

```

> [emb|CAG03938.1|](#) unnamed protein product [Tetraodon nigroviridis]  
Length=1198

Score = 32.7 bits (73), Expect = 6.4  
Identities = 17/42 (40%), Positives = 21/42 (50%), Gaps = 2/42 (4%)  
Frame = +3

```
Query 57 P P R L Q H H A L H L R P V Q P P P T R P S A Y V T X Q P P L -- R L S A G P P L T 176
          P P H H H ++ P V Q P P + + P L R G P P T
Sbjct 1154 P P Y Y H H H R F H V Q P V Q P P L Q G L P P H T I Q R G P L P C R P V L G P P H T 1195
```

> [sp|Q9Y3S1|WNK2\\_HUMAN](#) **G** Serine/threonine-protein kinase WNK2  
(Protein kinase with no lysine 2) (Protein kinase, lysine-deficient 2)  
[emb|CAB44308.5|](#) **UG** putative mitogen-activated protein kinase kinase kinase [Homo sapiens]  
Length=2297

Score = 32.7 bits (73), Expect = 6.4  
Identities = 18/44 (40%), Positives = 20/44 (45%), Gaps = 4/44 (9%)  
Frame = +3

```
Query 54 C P P R L Q H H ---- A L H L R P V Q P P P T R P S A Y V T X Q P P L R L S A G P P L 173
          C P P L Q H A + P V P P P + P Q P P P L
Sbjct 691 C P P S L Q Q H F P D P A M S F A P V L P P P S T P M P T G P G Q P A P P G Q Q P P P L 734
```

> [ref|NP\\_771502.1|](#) **G** hypothetical protein bll4862 [Bradyrhizobium japonicum USDA 110]  
[dbj|BAC50127.1|](#) **G** bll4862 [Bradyrhizobium japonicum USDA 110]  
Length=887



Score = 32.7 bits (73), Expect = 6.4  
Identities = 21/45 (46%), Positives = 23/45 (51%), Gaps = 8/45 (17%)  
Frame = +3

```
Query 45 P E C C P P R L Q H H A L H L R P V Q P P P T R P S A Y V T X Q P P L R L S A G P P L T P 179
          P P P R Q A R P P P P R S A P P R ++ A P P P
Sbjct 785 P A A P P P R P Q A V A --- R P T P P P P P R V S A ----- P P P R M A A P P P P R P 821
```

> [dbj|BAB21851.2|](#) **UG** KIAA1760 protein [Homo sapiens]  
Length=2219

Score = 32.7 bits (73), Expect = 6.4  
Identities = 18/44 (40%), Positives = 20/44 (45%), Gaps = 4/44 (9%)  
Frame = +3

```
Query 54 C P P R L Q H H ---- A L H L R P V Q P P P T R P S A Y V T X Q P P L R L S A G P P L 173
          C P P L Q H A + P V P P P + P Q P P P L
Sbjct 686 C P P S L Q Q H F P D P A M S F A P V L P P P S T P M P T G P G Q P A P P G Q Q P P P L 729
```

> [ref|XP\\_001229428.1](#)  hypothetical protein CHGG\_02912 [Chaetomium globosum CBS 148.51]  
[gb|EAQ90977.1](#)  hypothetical protein CHGG\_02912 [Chaetomium globosum CBS 148.51]  
 Length=797

Score = 32.7 bits (73), Expect = 6.4  
 Identities = 19/47 (40%), Positives = 26/47 (55%), Gaps = 1/47 (2%)  
 Frame = +3

```



Query  42  SPECCPRLQHHALHLRPVQPPPTRPSAYVTXQ-PPLRLSAGPPLTP  179
          SP  PP+L++ L  P  PPPTRP++ ++                LS  PP  TP
Sbjct  389  SPLGPPPQLRNSTLGQGAAPPPTRPTSGLSRSLSHPNLSHEPPPTP  435
  
```

> [gb|EAY80041.1](#) hypothetical protein OsI\_034000 [Oryza sativa (indica cultivar-group)]  
 Length=330

Score = 32.3 bits (72), Expect = 8.4  
 Identities = 16/44 (36%), Positives = 20/44 (45%), Gaps = 4/44 (9%)  
 Frame = +3

```


Query  48  ECCPRLQHHALHLRPVQ----PPPTRPSAYVTXQPPLRLSAGP  167
          E  PP+ +HH H  P  Q      PP  P +Y      PP  +A P
Sbjct  118  EKAPPKSKHHGRHAPPDQPELSPFPAPPPESTYTPDAPPAPEAASP  161
  
```

> [ref|YP\\_001020428.1](#)  hypothetical protein Mpe\_A1231 [Methylibium petroleiphilum PM1]  
[gb|ABM94193.1](#)  hypothetical protein Mpe\_A1231 [Methylibium petroleiphilum PM1]  
 Length=371

Score = 32.3 bits (72), Expect = 8.4  
 Identities = 15/35 (42%), Positives = 18/35 (51%), Gaps = 0/35 (0%)  
 Frame = +3

```

Query  42  SPECCPRLQHHALHLRPVQPPPTRPSAYVTXQPP  146
          +P  PRL  L  +PV PPP  P+A      PP
Sbjct  57  APVELPPRLAKLVLEQKPVPPPPPPPAKAAALPP  91
  
```

> [emb|CAL26602.1](#)  WASL protein [Homo sapiens]  
 Length=505

Score = 32.3 bits (72), Expect = 8.4  
 Identities = 16/38 (42%), Positives = 18/38 (47%), Gaps = 0/38 (0%)  
 Frame = +3

```

Query  57  PRLQHHALHLRPVQPPPTRPSAYVTXQPPLRLSAGPP  170
          PP  A  P  PPP+RPS  V  PP R+  PP
Sbjct  310  PPPPSRAPTAAPPPPPPSRPSVAVPPPPPNRMYP PPP  347
  
```

> [ref|XP\\_415994.2|](#) **UG** PREDICTED: similar to N-WASP [Gallus gallus]  
Length=505

Score = 32.3 bits (72), Expect = 8.4  
Identities = 16/38 (42%), Positives = 18/38 (47%), Gaps = 0/38 (0%)  
Frame = +3

```
Query 57 PPRLQHHALHLRPVQPPPTRPSAYVTXQPPLRLSAGPP 170
          PP A P PPP+RP A V PP R+ PP
Sbjct 311 P P P P S R A P T A A P P P P P P S R P G A A V P P P P P P N R M Y P P P P 348
```

> [ref|XP\\_001148606.1|](#) **G** PREDICTED: Wiskott-Aldrich syndrome gene-like protein isoform 1 [Pan troglodytes]  
Length=495

Score = 32.3 bits (72), Expect = 8.4  
Identities = 16/38 (42%), Positives = 18/38 (47%), Gaps = 0/38 (0%)  
Frame = +3

```
Query 57 PPRLQHHALHLRPVQPPPTRPSAYVTXQPPLRLSAGPP 170
          PP A P PPP+RPS V PP R+ PP
Sbjct 300 P P P P S R A P T A A P P P P P P S R P S V A V P P P P P P N R M Y P P P P 337
```

> [ref|XP\\_001127680.1|](#) **G** PREDICTED: similar to Cornifin B (Small proline-rich protein IB) (SPR-IB) (14.9 kDa pancornulin) [Homo sapiens]  
Length=234

Score = 32.3 bits (72), Expect = 8.4  
Identities = 17/47 (36%), Positives = 24/47 (51%), Gaps = 2/47 (4%)  
Frame = +3

```
Query 3 AHCCSTLVGSAIRSPECCPPRLQHHALHLRPVQPPPTRPSAYVTXQP 143
        +HCCS + + P PP+LQ + +P QPPP P T +P
Sbjct 145 SHCCS-MSSQQQKQPCTPPPQLQQQVK-QPCQPPPQEPICPKTKEP 189
```

> [ref|XP\\_001108626.1|](#) **UG** PREDICTED: similar to WNK lysine deficient protein kinase 2 [Macaca mulatta]  
Length=2142

Score = 32.3 bits (72), Expect = 8.4  
Identities = 21/53 (39%), Positives = 25/53 (47%), Gaps = 4/53 (7%)  
Frame = +3

```
Query 24 VGSAIRSPECCPPRLQH---ALHLRPVQPPPTRPSAYVTXQPPLRLSAGPPL 173
          VGS + +P C PP QH A+ PV PPP+ P QP PPL
Sbjct 668 VGS-VPAPACPPPLQQHFDPAMSFAPVLP P P P P S T P L P T G P G Q P A P P G Q Q P P P L 719
```



> [ref|XP\\_001085180.1](#) **G** PREDICTED: similar to Wiskott-Aldrich syndrome gene-like protein [Macaca mulatta]  
Length=435

Score = 32.3 bits (72), Expect = 8.4  
Identities = 16/38 (42%), Positives = 18/38 (47%), Gaps = 0/38 (0%)  
Frame = +3

Query 57 PPRLQHHLHLPVQPPPTRPSAYVTXQPPLRLSAGPP 170  
PP A P PPP+RPS V PP R+ PP  
Sbjct 240 PPSPPSRAPTAAPPPPPPSRPSVAVPPPPPNRMYP PPP 277

> [ref|NP\\_001028227.1](#) **UG** aryl hydrocarbon receptor interacting protein-like 1 isoform 3 [Homo sapiens]  
[gb|EAW90310.1](#) **G** aryl hydrocarbon receptor interacting protein-like 1, isoform  
CRA\_a [Homo sapiens]  
Length=324

Score = 32.3 bits (72), Expect = 8.4  
Identities = 16/56 (28%), Positives = 22/56 (39%), Gaps = 0/56 (0%)  
Frame = +3

Query 12 CSTLVGSAIRSPECCPPRLQHHLHLPVQPPPTRPSAYVTXQPPLRLSAGPPLTP  
179  
C ++ P PP P PPT PSA ++ PP + PP +P  
Sbjct 263 CRNMLSQGATQPPAEPPTPEPPAQSSSTEPPAEPPTAPSAEELSAGPPAEPATEPPPPSP  
318

> [ref|NP\\_001028226.1](#) **UG** aryl hydrocarbon receptor interacting protein-like 1 isoform 2 [Homo sapiens]  
[gb|AAM88405.1|AF525970.1](#) **UG** aryl hydrocarbon receptor-interacting protein-like 2 [Homo sapiens]  
[gb|EAW90312.1](#) **G** aryl hydrocarbon receptor interacting protein-like 1, isoform  
CRA\_c [Homo sapiens]  
Length=321

Score = 32.3 bits (72), Expect = 8.4  
Identities = 16/56 (28%), Positives = 22/56 (39%), Gaps = 0/56 (0%)  
Frame = +3

Query 12 CSTLVGSAIRSPECCPPRLQHHLHLPVQPPPTRPSAYVTXQPPLRLSAGPPLTP  
179  
C ++ P PP P PPT PSA ++ PP + PP +P  
Sbjct 260 CRNMLSQGATQPPAEPPTPEPPAQSSSTEPPAEPPTAPSAEELSAGPPAEPATEPPPPSP  
315

> [gb|AAV38348.1](#) Wiskott-Aldrich syndrome-like [synthetic construct]  
Length=506



Score = 32.3 bits (72), Expect = 8.4  
Identities = 16/38 (42%), Positives = 18/38 (47%), Gaps = 0/38 (0%)  
Frame = +3

Query 57 P P R L Q H H A L H L R P V Q P P P T R P S A Y V T X Q P P L R L S A G P P 170  
PP A P P P P + R P S V P P R + P P  
Sbjct 310 P P P P P S R A P T A A P P P P P P S R P S V A V P P P P P N R M Y P P P P 347

>  [gb|AAF74023.1|AF148864.1](#)  aryl-hydrocarbon interacting protein-like-1; AIPL1 [Homo sapiens]  
Length=384



Score = 32.3 bits (72), Expect = 8.4  
Identities = 16/56 (28%), Positives = 22/56 (39%), Gaps = 0/56 (0%)  
Frame = +3

Query 12 C S T L V G S A I R S P E C C P P R L Q H H A L H L R P V Q P P P T R P S A Y V T X Q P P L R L S A G P P L T P  
179  
C ++ P P P P P T P S A ++ P P + P P + P  
Sbjct 323 C R N M L S Q G A T Q P P A E P P T E P P A Q S S T E P P A E P P T A P S A E L S A G P P A E P A T E P P P S P  
378

>  [gb|AAF26708.1](#)  aryl-hydrocarbon interacting protein-like 1 [Homo sapiens]  
Length=384



Score = 32.3 bits (72), Expect = 8.4  
Identities = 16/56 (28%), Positives = 22/56 (39%), Gaps = 0/56 (0%)  
Frame = +3

Query 12 C S T L V G S A I R S P E C C P P R L Q H H A L H L R P V Q P P P T R P S A Y V T X Q P P L R L S A G P P L T P  
179  
C ++ P P P P P T P S A ++ P P + P P + P  
Sbjct 323 C R N M L S Q G A T Q P P A E P P T E P P A Q S S T E P P A E P P T A P S A E L S A G P P A E P A T E P P P S P  
378

>  [ref|XP\\_698710.1](#)  PREDICTED: similar to plasticity-related protein PRG-2 [Danio rerio]  
Length=699

Score = 32.3 bits (72), Expect = 8.4  
Identities = 13/32 (40%), Positives = 19/32 (59%), Gaps = 0/32 (0%)  
Frame = +3

Query 84 H L R P V Q P P P T R P S A Y V T X Q P P L R L S A G P P L T P 179  
H + P P T P A + T + P P + S P P + + P  
Sbjct 459 H M S K P A N P P T G P K A V M T P R P P T Q S S I P P P V S P 490

>  [ref|NP\\_001065817.1](#)  Os11g0160400 [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]

[gb|AAx95459.1](#) | **G** hydroxyproline-rich glycoprotein DZ-HRGP-related [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]

[gb|ABA91586.1](#) | **G** expressed protein [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]

[dbj|BAF27662.1](#) | **G** Os11g0160400 [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]

Length=316

Score = 32.3 bits (72), Expect = 8.4  
Identities = 16/44 (36%), Positives = 20/44 (45%), Gaps = 4/44 (9%)  
Frame = +3

```
Query 48  ECCPPRLQHHALHLPVQ----PPPTRPSAYVTXQPPLRLSAGP 167
          E PP+ +HH H P Q PP P +Y PP +A P
Sbjct 118  EKAPPKSKHHGRHAPPDQPELSPPAPPPESTYTPDAPPAPEAASP 161
```

> [emb|CAH89371.1](#) | hypothetical protein [Pongo pygmaeus]  
Length=506

Score = 32.3 bits (72), Expect = 8.4  
Identities = 16/38 (42%), Positives = 18/38 (47%), Gaps = 0/38 (0%)  
Frame = +3

```
Query 57  PPRLQHHALHLPVQPPPTRPSAYVTXQPPLRLSAGPP 170
          PP A P PPP+RPS V PP R+ PP
Sbjct 311  PPPPSRAPTAAPPPPPSRPSVAVPPPPPNRMYP PPP 348
```

> [emb|CAH25995.1](#) | **UG** aryl hydrocarbon receptor interacting protein-like 1 [Homo sapiens]  
Length=362

Score = 32.3 bits (72), Expect = 8.4  
Identities = 16/56 (28%), Positives = 22/56 (39%), Gaps = 0/56 (0%)  
Frame = +3

```
Query 12  CSTLVGSAIRSPECCPPRLQHHALHLPVQPPPTRPSAYVTXQPPLRLSAGPPLTP
179
          C ++ P PP P PPT PSA ++ PP + PP +P
Sbjct 301  CRNMLSQGATQPPAEPPTPEPPAQSSTEPPAEPPTAPSAELSAGPPAEPATEPPPPSP
356
```

> [emb|CAH25996.1](#) | **UG** aryl hydrocarbon receptor interacting protein-like 1 [Homo sapiens]  
Length=360

Score = 32.3 bits (72), Expect = 8.4  
Identities = 16/56 (28%), Positives = 22/56 (39%), Gaps = 0/56 (0%)  
Frame = +3

```
Query 12  CSTLVGSAIRSPECCPPRLQHHALHLPVQPPPTRPSAYVTXQPPLRLSAGPPLTP
179
          C ++ P PP P PPT PSA ++ PP + PP +P
Sbjct 299  CRNMLSQGATQPPAEPPTPEPPAQSSTEPPAEPPTAPSAELSAGPPAEPATEPPPPSP
354
```

> [emb|CAG17883.1|](#) **UG** aryl hydrocarbon receptor interacting protein-like 1 [Homo sapiens]  
 Length=321

Score = 32.3 bits (72), Expect = 8.4  
 Identities = 16/56 (28%), Positives = 22/56 (39%), Gaps = 0/56 (0%)  
 Frame = +3

```

Query 12  CSTLVGSAIRSPECCPPRLQHHALHLRPVQPPPTRPSAYVTXQPPLRLSAGPPLTP
179
          C  ++          P  PP          P  PPT PSA ++  PP  +  PP +P
Sbjct 260  CRNMLSQGATQPPAEPPTPEPPAQSSTEPPAEPPTAPSAELSAGPPAEPATEPPPPSP
315
  
```

> [emb|CAG17882.1|](#) **UG** aryl hydrocarbon receptor interacting protein-like 1 [Homo sapiens]  
 Length=324

Score = 32.3 bits (72), Expect = 8.4  
 Identities = 16/56 (28%), Positives = 22/56 (39%), Gaps = 0/56 (0%)  
 Frame = +3

```

Query 12  CSTLVGSAIRSPECCPPRLQHHALHLRPVQPPPTRPSAYVTXQPPLRLSAGPPLTP
179
          C  ++          P  PP          P  PPT PSA ++  PP  +  PP +P
Sbjct 263  CRNMLSQGATQPPAEPPTPEPPAQSSTEPPAEPPTAPSAELSAGPPAEPATEPPPPSP
318
  
```

> [emb|CAD97892.1|](#) **UG** hypothetical protein [Homo sapiens]  
[gb|EAW90311.1|](#) **G** aryl hydrocarbon receptor interacting protein-like 1, isoform  
 CRA\_b [Homo sapiens]  
 Length=372

Score = 32.3 bits (72), Expect = 8.4  
 Identities = 16/56 (28%), Positives = 22/56 (39%), Gaps = 0/56 (0%)  
 Frame = +3

```

Query 12  CSTLVGSAIRSPECCPPRLQHHALHLRPVQPPPTRPSAYVTXQPPLRLSAGPPLTP
179
          C  ++          P  PP          P  PPT PSA ++  PP  +  PP +P
Sbjct 311  CRNMLSQGATQPPAEPPTPEPPAQSSTEPPAEPPTAPSAELSAGPPAEPATEPPPPSP
366
  
```

> [ref|NP\\_003932.3|](#) **UG** Wiskott-Aldrich syndrome gene-like protein [Homo sapiens]  
[ref|XP\\_519342.2|](#) **G** PREDICTED: Wiskott-Aldrich syndrome gene-like protein isoform  
 2 [Pan troglodytes]  
[sp|O00401|WASL\\_HUMAN](#) **G** Neural Wiskott-Aldrich syndrome protein (N-WASP)

[gb|AAH52955.1|](#) **UG** Wiskott-Aldrich syndrome-like [Homo sapiens]  
[gb|AAQ96857.1|](#) **G** unknown [Homo sapiens]  
[gb|EAW83599.1|](#) **G** Wiskott-Aldrich syndrome-like [Homo sapiens]  
 Length=505

Score = 32.3 bits (72), Expect = 8.4  
 Identities = 16/38 (42%), Positives = 18/38 (47%), Gaps = 0/38 (0%)  
 Frame = +3

Query 57 PPRLQHHLHLPVQPPPTTRPSAYVTXQPPLRLSAGPP 170  
 PP A P PPP+RPS V PP R+ PP  
 Sbjct 310 PPSPPSRAPTAAPPPPPPSRPSVAVPPPPPNRMYP PPP 347

> [dbj|BAA20128.1|](#) **UG** N-WASP [Homo sapiens]  
 Length=505



Score = 32.3 bits (72), Expect = 8.4  
 Identities = 16/38 (42%), Positives = 18/38 (47%), Gaps = 0/38 (0%)  
 Frame = +3

Query 57 PPRLQHHLHLPVQPPPTTRPSAYVTXQPPLRLSAGPP 170  
 PP A P PPP+RPS V PP R+ PP  
 Sbjct 310 PPSPPSRAPTAAPPPPPPSRPSVEVPPPPPNRMYP PPP 347

> [ref|NP\\_055151.3|](#) **UG** aryl hydrocarbon receptor interacting protein-like 1 isoform  
 1 [Homo sapiens]  
[sp|Q9NZN9|AIPL1 HUMAN](#) **G** Aryl-hydrocarbon-interacting protein-like 1  
[dbj|BAB14744.1|](#) **UG** unnamed protein product [Homo sapiens]  
[gb|AAH12055.1|](#) **UG** Aryl hydrocarbon receptor interacting protein-like 1 [Homo sapiens]  
[gb|EAW90313.1|](#) **G** aryl hydrocarbon receptor interacting protein-like 1, isoform  
 CRA\_d [Homo sapiens]  
[gb|EAW90314.1|](#) **G** aryl hydrocarbon receptor interacting protein-like 1, isoform  
 CRA\_d [Homo sapiens]  
[gb|ABM83186.1|](#) **G** aryl hydrocarbon receptor interacting protein-like 1 [synthetic construct]  
[gb|ABM86388.1|](#) **G** aryl hydrocarbon receptor interacting protein-like 1 [synthetic construct]  
 Length=384

Score = 32.3 bits (72), Expect = 8.4  
 Identities = 16/56 (28%), Positives = 22/56 (39%), Gaps = 0/56 (0%)  
 Frame = +3

Query 12 CSTLVGSAIRSPECCPPRLQHHLHLPVQPPPTTRPSAYVTXQPPLRLSAGPPLTP  
 179  
 C ++ P PP P PPT PSA ++ PP + PP +P  
 Sbjct 323 CRNMLSQGATQPPAEPPTPEPPAQSSTEPPAEPPTAPSAELSAGPPAEPATEPPPPSP  
 378

>  [EAL24333.1](#) |  Wiskott-Aldrich syndrome-like [Homo sapiens]  
Length=485

Score = 32.3 bits (72), Expect = 8.4  
Identities = 16/38 (42%), Positives = 18/38 (47%), Gaps = 0/38 (0%)  
Frame = +3

```
Query  57  P P R L Q H H A L H L R P V Q P P P T R P S A Y V T X Q P P L R L S A G P P 170
        P P      A      P  P P P + R P S  V    P P R +    P P
Sbjct  290  P P P P P S R A P T A A P P P P P P S R P S V A V P P P P P N R M Y P P P P 327
```



## OPA 12-8 blast search

Cggaccccagctgctccccagttggtaccgctatccgggctgaggtgaccgccccggcacagcaccacagtcggcc  
acctcaggccggtacagccccaccacgaggccaccaccagccgatgttacaataagcgaagggtctctactgcg  
tggccctcct

> [gb|DQ185064.1|](#) Solanum tuberosum cytochrome c oxidase subunit  
II (COX2) gene,  
complete cds; mitochondrial  
Length=2874

Score = 51.8 bits (56), Expect = 7e-04  
Identities = 85/118 (72%), Gaps = 6/118 (5%)  
Strand=Plus/Minus

Query 39  
GGCCTGAGGTGACCGCCCCGGCACAGCACCACAGTCGGCCACCTCAGGCCGGTACAGCCC 98  
||| |||| | | || |||| |||| |||| | | | |||| |||  
|||||||  
Sbjct 2715 GGTCTGATTTAAACGACCCGGTACAGCATCACATTTGAC-  
ACCTAAGGAAGGTACAGCCC 2657

Query 99 CACCCACGAGGCCACCACCAGCCGATGTTACAAT-  
AAGCGAAAAGGGCTCTCTACTG 155  
|| | |||| || || ||| ||||| || || | | ||||| |  
|||  
Sbjct 2656 AACT-ATGAGGTACATCAGCAG---  
ATGTTACAATAAAACGTATATGGCTCTTTGCTG 2603

> [gb|AY832097.1|](#) Amborella trichopoda cytochrome oxidase subunit  
II (cox2) gene,  
exon 2 and partial cds; mitochondrial  
Length=266

Score = 46.4 bits (50), Expect = 0.030  
Identities = 71/98 (72%), Gaps = 5/98 (5%)  
Strand=Plus/Minus

Query 39  
GGCCTGAGGTGACCGCCCCGGCACAGCACCACAGTCGGCCACCTCAGGCCGGTACAGCCC 98  
||| |||| | | || || || ||||| |||| | | | |||| |||  
|||||||  
Sbjct 217 GGTCTGATTTAAACGACCAGGTACAGCATCACATTTGAC-  
ACCTGAGGAAGGTACAGCCC 159


Query 99 CACCCACGAGGCCACCACCAGCCGATGTTACAATAAG 136  
|| | |||| || || ||| ||||| |||||  
Sbjct 158 AACT-ATGAGGTACATCAGCAG---ATGTTACAATAAG 125





Query 39  
GGCCTGAGGTGACCGCCCCGGCACAGCACCACAGTCGGCCACCTCAGGCCGGTACAGCCC 98  
|| |||| | | || || || ||||| |||| | | | |||| |||  
|||||||  
Sbjct 158335 GGTCTGATTTAAACGACCAGGTACAGCATCACATTTGAC-  
ACCTAAGGAAGGTACAGCCC 158277

Query 99 CACCCACGAGGCCACCACCAGCCGATGTTACAATAA 135  
|| | |||| || || || | |||||  
Sbjct 158276 AACT-ATGAGGTACATCAGCAG---ATGTTACAATAA 158244



>  [emb|Y08501.2|MIATGENA](#)  Arabidopsis thaliana mitochondrial genome  
Length=366924

Features in this part of subject sequence:  
[NADH dehydrogenase subunit 5](#)  
[cytochrome c oxidase subunit 2](#)

Score = 44.6 bits (48), Expect = 0.11  
Identities = 62/84 (73%), Gaps = 5/84 (5%)  
Strand=Plus/Plus

Query 52  
CGCCCCGGCACAGCACCACAGTCGGCCACCTCAGGCCGGTACAGCCCCACCCACGAGGCC 111  
|| || || ||||| |||| | | | |||| ||| ||||| || || |  
||||  
Sbjct 42018 CGACCAGGTACAGCATCACATTTGAC-ACCTGAGGAAGGTACAGCCCAACT-  
ATGAGGTA 42075

Query 112 CACCACCAGCCGATGTTACAATAA 135  
|| || ||| |||||  
Sbjct 42076 CATCAGCAG---ATGTTACAATAA 42096

>  [dbj|AP006444.1|](#)  Brassica napus mitochondrial DNA, complete genome  
Length=221853

alignments for this subject sequence by: Sort  
E value  
[Score](#) [Percent identity](#)  
[Query](#)  
[start position](#) [Subject start position](#)

Features in this part of subject sequence:  
[NADH dehydrogenase subunit 1](#)  
[cytochrome c oxidase subunit 2](#)


Score = 44.6 bits (48), Expect = 0.11  
Identities = 62/84 (73%), Gaps = 5/84 (5%)  
Strand=Plus/Plus








```
Query 112 CACCACCAGCCGATGTTACAATAA 135
      || || ||| |||||
Sbjct 5879 CATCAGCAG---ATGTTACAATAA 5859
```

> [gb|AC009093.10|](#)  Homo sapiens chromosome 16 clone RP11-426C22, complete sequence  
Length=207997


Score = 42.8 bits (46), Expect = 0.37  
Identities = 32/38 (84%), Gaps = 0/38 (0%)  
Strand=Plus/Minus

```
Query 81 CTCAGGCCGGTACAGCCCCACCCACGAGGCCACCACC 118
      ||||| | ||||| ||| ||| |||
Sbjct 72927 CTCAGGCAGTGACAGCCCCACCCAGGAGGCCACCACC 72890
```

> [gb|AC134312.3|](#)  Homo sapiens chromosome 16 clone RP11-863P13, complete sequence  
Length=205610


Score = 42.8 bits (46), Expect = 0.37  
Identities = 32/38 (84%), Gaps = 0/38 (0%)  
Strand=Plus/Minus

```
Query 81 CTCAGGCCGGTACAGCCCCACCCACGAGGCCACCACC 118
      ||||| | ||||| ||| ||| |||
Sbjct 105575 CTCAGGCAGTGACAGCCCCACCCAGGAGGCCACCACC 105538
```

> [ref|NM\\_021165.2|](#)  Homo sapiens family with sequence similarity 5, member B (FAM5B), mRNA  
Length=3617

Score = 41.0 bits (44), Expect = 1.3  
Identities = 25/27 (92%), Gaps = 0/27 (0%)  
Strand=Plus/Minus

```
Query 73 TCGGCCACCTCAGGCCGGTACAGCCCC 99
      ||||| ||||| |||||
Sbjct 1802 TCGGCCACCTCTGGCCGGCACAGCCCC 1776
```

> [ref|XM\\_001153377.1|](#)  PREDICTED: Pan troglodytes BMP/retinoic acid-inducible neural-specific protein 2, transcript variant 1 (FAM5B), mRNA  
Length=3344

Score = 41.0 bits (44), Expect = 1.3  
Identities = 25/27 (92%), Gaps = 0/27 (0%)  
Strand=Plus/Minus

```
Query 73 TCGGCCACCTCAGGCCGGTACAGCCCC 99
      ||||| ||||| |||||
Sbjct 1585 TCGGCCACCTCTGGCCGGCACAGCCCC 1559
```














Identities = 34/42 (80%), Gaps = 0/42 (0%)  
Strand=Plus/Plus

```
Query 64 GCACCACAGTCGGCCACCTCAGGCCGGTACAGCCCCACCCAC 105
        ||||| | || ||||| ||||| ||||| |||||
Sbjct 41170 GCACCAGGGCTGGACACCTCAGGCCAGCACAGCACCACCCAC 41211
```

>  [emb|AL035289.1|HS1026E21](#) **UEG** H.sapiens gene from PAC 1026E2, partial  
Length=3241

Score = 41.0 bits (44), Expect = 1.3  
Identities = 25/27 (92%), Gaps = 0/27 (0%)  
Strand=Plus/Minus


```
Query 73 TCGGCCACCTCAGGCCGGTACAGCCCC 99
        ||||| ||||| |||||
Sbjct 1485 TCGGCCACCTCTGGCCGGCACAGCCCC 1459
```

>  [emb|X55297.1|BVCOXII](#) B.vulgaris coxII gene for cytochrome oxidase subunit II  
Length=2759

Score = 41.0 bits (44), Expect = 1.3  
Identities = 69/97 (71%), Gaps = 5/97 (5%)  
Strand=Plus/Minus

```
Query 39
GGCCTGAGGTGACCGCCCCGGCACAGCACCACAGTCGGCCACCTCAGGCCGGTACAGCCC 98
        || |||| | | || || || ||||| |||| | | | |||| |||
|||||
Sbjct 2466 GGTCTGATTTAAACGACCAGGTACAGCATCACATTTGAC-
ACCTGAGGAAGGTACAGCCC 2408
```

```
Query 99 CACCCACGAGGCCACCACCAGCCGATGTTACAATAA 135
        || | || | || || || |||||
Sbjct 2407 AACT-ATGAAGTACATCA---GCGGATGTTACAATAA 2375
```

>  [emb|X17395.1|MIPHCO22](#) Petunia coxII-2 mitochondrial gene for cytochrome oxidase subunit II  
Length=2733

Score = 41.0 bits (44), Expect = 1.3  
Identities = 69/97 (71%), Gaps = 5/97 (5%)  
Strand=Plus/Minus

```
Query 39
GGCCTGAGGTGACCGCCCCGGCACAGCACCACAGTCGGCCACCTCAGGCCGGTACAGCCC 98
        || |||| | | || || || ||||| |||| | | | |||| |||
|||||
Sbjct 2236 GGTCTGATTTAAACGACCAGGTACAGCATCACATTTGAC-
ACCTAAGGAAGGTACAGCCC 2178
```

```
Query 99 CACCCACGAGGCCACCACCAGCCGATGTTACAATAA 135
        || | || | || || || |||||
```









```
Query 112 CACCACCAGCCGATGTTACAATAA 135
          || || ||| |||||
Sbjct 550 CATCAGCAGG---TGTTACAATAA 530
```

> [gb|AF207675.1|AF207675](#) Neonotonia wightii cytochrome oxidase subunit 2 (cox2) mRNA, complete cds; mitochondrial gene for mitochondrial product Length=762

Score = 39.2 bits (42), Expect = 4.5  
Identities = 61/84 (72%), Gaps = 5/84 (5%)  
Strand=Plus/Minus

```
Query 52
CGCCCCGGCAGCAGCACCACAGTCGGCCACCTCAGGCCGGTACAGCCCCACCCACGAGGCC 111
          || || || ||||| |||| | | | |||| ||| ||||| ||| || | ||
|
Sbjct 608 CGACCAGGTACAGCATCACATTTGAC-ACCTAAGGAAGGTACAGCCCAACT-
ATGAAGTA 551
```

```
Query 112 CACCACCAGCCGATGTTACAATAA 135
          || || ||| |||||
Sbjct 550 CATCAGCAG---ATGTTACAATAA 530
```

> [gb|AF207674.1|AF207674](#) Pseudemia comosa cytochrome oxidase subunit 2 (cox2) gene, complete cds; mitochondrial gene for mitochondrial product Length=762

Score = 39.2 bits (42), Expect = 4.5  
Identities = 61/84 (72%), Gaps = 5/84 (5%)  
Strand=Plus/Minus

```
Query 52
CGCCCCGGCAGCAGCACCACAGTCGGCCACCTCAGGCCGGTACAGCCCCACCCACGAGGCC 111
          || || || ||||| |||| | | | |||| ||| ||||| ||| || |
||||
Sbjct 608 CGACCAGGTACAGCATCACATTTGAC-ACCTAAGGAAGGTACAGCCCAACT-
ATGAGGTA 551
```

```
Query 112 CACCACCAGCCGATGTTACAATAA 135
          || || ||| |||||
Sbjct 550 CATCAGCAGG---TGTTACAATAA 530
```

> [gb|AF207673.1|AF207673](#) Pseudemia comosa cytochrome oxidase subunit 2 (cox2) mRNA, complete cds; mitochondrial gene for mitochondrial product Length=762

Score = 39.2 bits (42), Expect = 4.5  
Identities = 61/84 (72%), Gaps = 5/84 (5%)  
Strand=Plus/Minus



```

Query 52
CGCCCCGGCACAGCACCACAGTCGGCCACCTCAGGCCGGTACAGCCCCACCCACGAGGCC 111
      || || || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
|
Sbjct 608 CGACCAGGTACAGCATCACATTTGAC-ACCTAAGGAAGGTACAGCCCAACT-
ATGAAGTA 551

```

```

Query 112 CACCACCAGCCGATGTTACAATAA 135
      || || || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
Sbjct 550 CATCAGCAG---ATGTTACAATAA 530

```

```

> gb|AF208163.1|AF208163 Pseudovigna argentea cytochrome oxidase
subunit 2 (cox2) mRNA,
complete cds; mitochondrial gene for mitochondrial product
Length=762

```

```

Score = 39.2 bits (42), Expect = 4.5
Identities = 61/84 (72%), Gaps = 5/84 (5%)
Strand=Plus/Minus

```

```

Query 52
CGCCCCGGCACAGCACCACAGTCGGCCACCTCAGGCCGGTACAGCCCCACCCACGAGGCC 111
      || || || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
|
Sbjct 608 CGACCAGGTACAGCATCACATTTGAC-ACCTAAGGAAGGTACAGCCCAACT-
ATGAAGTA 551

```

```

Query 112 CACCACCAGCCGATGTTACAATAA 135
      || || || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
Sbjct 550 CATCAGCAG---ATGTTACAATAA 530

```

```

> gb|AF208162.1|AF208162 Lespedeza formosa cytochrome oxidase
subunit 2 (cox2) gene, complete
cds; mitochondrial gene for mitochondrial product
Length=762

```

```

Score = 39.2 bits (42), Expect = 4.5
Identities = 61/84 (72%), Gaps = 5/84 (5%)
Strand=Plus/Minus

```

```

Query 52
CGCCCCGGCACAGCACCACAGTCGGCCACCTCAGGCCGGTACAGCCCCACCCACGAGGCC 111
      || || || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
|||||
Sbjct 608 CGACCAGGTACAGCATCACATTTGAC-ACCTAAGGAAGGTACAGCCCAACT-
ATGAGGTA 551

```

```

Query 112 CACCACCAGCCGATGTTACAATAA 135
      || || || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
Sbjct 550 CATCAGCAGG---TGTTACAATAA 530

```

```

> gb|AF207746.1|AF207746 Cologania lemmonii cytochrome oxidase
subunit 2 (cox2) gene,
complete cds; mitochondrial gene for mitochondrial product
Length=762

```

Score = 39.2 bits (42), Expect = 4.5  
Identities = 61/84 (72%), Gaps = 5/84 (5%)  
Strand=Plus/Minus

```
Query 52
CGCCCCGGCACAGCACACAGTCGGCCACCTCAGGCCGGTACAGCCCCACCCACGAGGCC 111
      || || || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
||||
Sbjct 608 CGACCAGGTACAGCATCACATTTGAC-ACCTAAGGAAGGTACAGCCCAACT-
ATGAGGTA 551

Query 112 CACCACCAGCCGATGTTACAATAA 135
      || || || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
Sbjct 550 CATCAGCAGG---TGTTACAATAA 530
```

> [gb|U43055.1|MTU43055](#) Magnolia tripetala cytochrome c oxidase subunit II (coxII) gene, mitochondrial gene encoding mitochondrial protein, partial cds  
Length=627

Score = 39.2 bits (42), Expect = 4.5  
Identities = 61/84 (72%), Gaps = 5/84 (5%)  
Strand=Plus/Minus

```
Query 52
CGCCCCGGCACAGCACACAGTCGGCCACCTCAGGCCGGTACAGCCCCACCCACGAGGCC 111
      || || || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
||||
Sbjct 557 CGACCAGGTACAGCATCACATTTGAC-ACCTGAGGAAGGTACAGCCCAACT-
ATGAGGTA 500

Query 112 CACCACCAGCCGATGTTACAATAA 135
      || || || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
Sbjct 499 CATCAGCAGG---TGTTACAATAA 479
```

> [gb|AF036386.1|AF036386](#) Brassica rapa cytochrome c oxidase subunit II (cox2) gene, complete cds  
Length=913

Score = 39.2 bits (42), Expect = 4.5  
Identities = 61/84 (72%), Gaps = 5/84 (5%)  
Strand=Plus/Minus

```
Query 52
CGCCCCGGCACAGCACACAGTCGGCCACCTCAGGCCGGTACAGCCCCACCCACGAGGCC 111
      || || || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
|
Sbjct 702 CGACCAGGTACAGCATCACATTTGAC-ACCTAAGGAAGGTACAGCCCAACT-
ATGAAGTA 645

Query 112 CACCACCAGCCGATGTTACAATAA 135
      || || || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
Sbjct 644 CATCAGCAG---ATGTTACAATAA 624
```

> [gb|AF036388.1|AF036388](#) Raphanus sativus cytochrome c oxidase subunit II (cox2) mRNA, mitochondrial mRNA encoding mitochondrial protein, complete cds  
Length=863

Score = 39.2 bits (42), Expect = 4.5  
Identities = 61/84 (72%), Gaps = 5/84 (5%)  
Strand=Plus/Minus

```
Query 52
CGCCCCGGCAGCACAGCACAGTCGGCCACCTCAGGCCGGTACAGCCCCACCCACGAGGCC 111
           || || || ||||| |||| | | | |||| ||| ||||| ||| || ||
|
Sbjct 681 CGACCAGGTACAGCATCACATTTGAC-ACCTAAGGAAGGTACAGCCCAACT-
ATGAAGTA 624

Query 112 CACCACCAGCCGATGTTACAATAA 135
          || || ||| ||||| |||||
Sbjct 623 CATCAGCAG---ATGTTACAATAA 603
```

> [emb|AJ414385.1|PSA414385](#) Pisum sativum mitochondrion cox2 gene for cytochrome oxidase subunit II  
Length=1828

Score = 39.2 bits (42), Expect = 4.5  
Identities = 61/84 (72%), Gaps = 5/84 (5%)  
Strand=Plus/Minus

```
Query 52
CGCCCCGGCAGCACAGCACAGTCGGCCACCTCAGGCCGGTACAGCCCCACCCACGAGGCC 111
           || || || ||||| |||| | | | |||| ||| ||||| ||| || |
||||
Sbjct 974 CGACCAGGTACAGCATCACATTTGAC-ACCTAAGGAAGGTACAGCCCAACT-
ATGAGGTA 917


Query 112 CACCACCAGCCGATGTTACAATAA 135
          || || ||| ||||| |||||
Sbjct 916 CATCAGCAGG---TGTTACAATAA 896
```

> [emb|X02433.1|MIPSCOX2](#) Pea mitochondrial gene for cytochrome oxidase subunit II  
Length=2035

Score = 39.2 bits (42), Expect = 4.5  
Identities = 61/84 (72%), Gaps = 5/84 (5%)  
Strand=Plus/Minus

```
Query 52
CGCCCCGGCACAGCACCACAGTCGGCCACCTCAGGCCGGTACAGCCCCACCCACGAGGCC 111
      || || || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
||||
Sbjct 1236 CGACCAGGTACAGCATCACATTTGAC-ACCTAAGGAAGGTACAGCCCAACT-
ATGAGGTA 1179
```



```
Query 112 CACCACCAGCCGATGTTACAATAA 135
      || || || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
Sbjct 1178 CATCAGCAGG---TGTTACAATAA 1158
```

>  [emb|X04825.1|MIGMCOII](#) Soybean mitochondrial COII gene for cytochrome oxidase subunit II and tRNA-Met (CAT) gene (upstream)  
Length=2020

Score = 39.2 bits (42), Expect = 4.5  
Identities = 61/84 (72%), Gaps = 5/84 (5%)  
Strand=Plus/Minus

```
Query 52
CGCCCCGGCACAGCACCACAGTCGGCCACCTCAGGCCGGTACAGCCCCACCCACGAGGCC 111
      || || || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
||||
Sbjct 1702 CGACCAGGTACAGCATCACATTTGAC-ACCTAAGGAAGGTACAGCCCAACT-
ATGAGGTA 1645
```

```
Query 112 CACCACCAGCCGATGTTACAATAA 135
      || || || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
Sbjct 1644 CATCAGCAGG---TGTTACAATAA 1624
```

>  [emb|AL606919.12|](#)  Mouse DNA sequence from clone RP23-264F10 on chromosome 4, complete sequence  
Length=187816

Score = 39.2 bits (42), Expect = 4.5  
Identities = 28/31 (90%), Gaps = 1/31 (3%)  
Strand=Plus/Plus

```
Query 93 CAGCCCCACCCACGAGGCCCA-CCACCAGCC 122
      || || || || || || || || || || || || || || || || || || || ||
Sbjct 159407 CAGCCCCACCCACGAGGCCCA-CCACCAGCC 159437
```

..

Database: All GenBank+EMBL+DDBJ+PDB sequences (but no EST, STS, GSS, environmental samples or phase 0, 1 or 2 HTGS sequences)  
Posted date: Apr 18, 2007 5:49 PM  
Number of letters in database: -1,112,235,676  
Number of sequences in database: 5,152,112  
Lambda K H  
0.634 0.408 0.912

Gapped  
Lambda      K      H  
    0.634      0.408      0.912  
Matrix: blastn matrix:2 -3  
Gap Penalties: Existence: 5, Extension: 2  
Number of Sequences: 5152112  
Number of Hits to DB: 1333998  
Number of extensions: 64302  
Number of successful extensions: 5048  
Number of sequences better than 10: 10  
Number of HSP's better than 10 without gapping: 0  
Number of HSP's gapped: 5048  
Number of HSP's successfully gapped: 10  
Length of query: 169  
Length of database: 20362600800  
Length adjustment: 33  
Effective length of query: 136  
Effective length of database: 20192581104  
Effective search space: 2746191030144  
Effective search space used: 2746191030144  
A: 0  
X1: 22 (20.1 bits)  
X2: 33 (29.8 bits)  
X3: 55 (49.6 bits)  
S1: 26 (24.7 bits)  
S2: 41 (38.3 bits)

[NCBI](#) | [NLM](#) | [NIH](#) | [DHHS](#)

[Copyright](#) | [Disclaimer](#) | [Privacy](#) | [Accessibility](#) | [Contact](#) | [Send feedback on new interface](#)