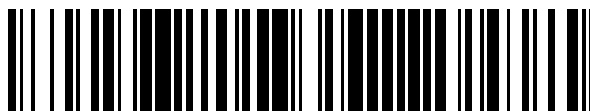


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 560 677**

51 Int. Cl.:

C12N 15/82 (2006.01)

C12N 9/02 (2006.01)

A01H 5/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.01.2008** **E 12155885 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.11.2015** **EP 2455473**

54 Título: **Plantas resistentes a enfermedades**

30 Prioridad:

01.02.2007 WO PCT/EP2007/050976

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.02.2016

73 Titular/es:

ENZA ZADEN BEHEER B.V. (100.0%)
Haling 1E
1602 DB Enkhuizen, NL

72 Inventor/es:

VAN DAMME, MIREILLE MARIA AUGUSTA y
VAN DEN ACKERVEKEN, AUGUSTINUS
FRANCISCUS J.M.

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 560 677 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Plantas resistentes a enfermedades

La presente invención se refiere a plantas de espinaca resistentes a enfermedad, en particular a plantas de espinaca resistentes a *Peronospora farinosa*. La invención además se refiere a métodos para obtener tales plantas de espinaca resistentes a enfermedad.

La resistencia de las plantas a patógenos fúngicos y oomicetes se ha estudiado exhaustivamente, para tanto resistencia específica a patógeno como general. En muchos casos la resistencia está especificada mediante genes dominantes para resistencia. Se ha identificado que muchos de estos genes específicos a raza o de resistencia gen por gen median el reconocimiento del patógeno al interactuar directa o indirectamente con productos del gen de avirulencia u otras moléculas del patógeno. Este reconocimiento conduce a la activación de un amplio rango de respuestas de defensa de la planta que detiene el crecimiento del patógeno.

En el cultivo vegetal hay una lucha constante por identificar nuevas fuentes de genes de resistencia dominantes mayoritariamente monogénica. En los cultivares con genes de resistencia sencillos nuevamente introducidos, la protección de la enfermedad con frecuencia se rompe rápidamente, porque los patógenos evolucionan y se adaptan a una alta frecuencia y recuperan la capacidad de infectar con éxito la planta huésped. Por lo tanto, se necesita mucho la disponibilidad de nuevas fuentes de resistencia a enfermedad.

Los mecanismos de resistencia alternativos actúan por ejemplo a través de la modulación de la respuesta de defensa en plantas, tal como la resistencia mediada por el gen *mlo* recesivo en cebada al patógeno de oídio ("powdery mildew") *Blumeria graminis f.sp. hordei*. Las plantas que llevan alelos mutados del gen *MLO* silvestre presentan resistencia casi completa que coincide con el aborto de la penetración fúngica intentada de la pared celular de células epidérmicas atacadas sencillas. El gen *MLO* silvestre actúa así como regulador negativo de la respuesta patógena. Esto está descrito en el documento WO9804586.

Otros ejemplos son los genes recesivos de resistencia a oídio, encontrados en una investigación de la pérdida de susceptibilidad a *Erysiphe cichoracearum*. Por ahora se han clonado tres genes, denominados *PMR6*, que codifica una proteína similar a la pectato liasa, *PMR4* que codifica una calosa sintasa, y *PMR5* que codifica una proteína de función desconocida. Tanto los genes *mlo* como *pmr* parecen conferir específicamente resistencia a oídio y no a oomicetes tales como los mildius ("downy mildews").

La resistencia a patógeno general, o formas sistémicas de resistencia tal como SAR, se ha obtenido mediante dos modos principales. El primero es mediante mutación de reguladores negativos de la defensa de la planta y muerte celular, tal como en los mutantes *cpr*, *lsd* y *acd* de *Arabidopsis*. El segundo es mediante sobreexpresión transgénica de inductores o reguladores de la defensa de la planta, tal como en plantas que sobreexpresan *NPR1*.

La desventaja de estos mecanismos de resistencia conocidos es que, además de resistencia a patógeno, estas plantas con frecuencia muestran fenotipos adicionales y no deseables detectables, tal como retraso en el crecimiento o la formación espontánea de muerte celular.

Es un objetivo de la presente invención proporcionar una forma de resistencia que sea general, duradera y no asociada a fenotipos no deseables.

En la investigación que condujo a la presente invención, se realizó una investigación de mutante de *Arabidopsis thaliana* para susceptibilidad reducida al patógeno de mildiu *Hyaloperonospora parasitica*. Se generaron mutantes por EMS en la línea *Ler eds1-2* de *Arabidopsis* altamente susceptible. Se analizaron en detalle ocho mutantes resistentes a mildiu (*dmr*, del Inglés "Downy mildew resistant"), que corresponden a 6 loci diferentes. El análisis microscópico mostró que en todos los mutantes de *H. parasitica* el crecimiento estaba severamente reducido. La resistencia de *dmr3*, *dmr4* y *dmr5* estaba asociada a la activación constitutiva de la defensa de la planta. Además, los mutantes *dmr3* y *dmr4*, pero no *dmr5*, eran también resistentes a *Pseudomonas syringae* y *Golovinomyces orontii*.

Por el contrario, no se observó activación aumentada de la defensa de la planta en los mutantes *dmr1*, *dmr2* y *dmr6*. Los resultados de esta investigación han sido descritos en Van Damme et al. (2005) *Molecular Plant-Microbe Interactions* 18(6) 583-592. Este artículo no describe la identificación y la caracterización de los genes de DMR.

Se identificó el mutante *dmr6* en una investigación de pérdida de susceptibilidad en el fondo de *Ler eds1-2* de *Arabidopsis*. Ya se ha clonado y caracterizado el gen *DMR6*. Por tanto, se encontró que *DMR6* es el gen At5g24530, que codifica para una oxidoreductasa (el ADN y la secuencia de aminoácidos están representados en la Figura 2). Las oxidoreductasas son enzimas que catalizan la transferencia de electrones desde una molécula, el oxidante, a otra, el reductor. De acuerdo con la presente invención, se ha encontrado que la carencia de una proteína DMR6 funcional da como resultado resistencia a mildiu.

La presente invención proporciona una planta de espinaca que es resistente a *Peronospora farinosa* caracterizada porque la planta tiene un nivel reducido, una actividad reducida o ausencia completa de la proteína DMR6 en

comparación con una planta que no es resistente a dicho patógeno.

La resistencia frente a *Peronospora farinosa* se basa en un nivel alterado, en particular un nivel reducido, actividad reducida o ausencia completa de la proteína DMR6 en planta.

5 Modular el gen *DMR6* para bajar su actividad o expresión se puede conseguir a diversos niveles. Primero, el gen endógeno se puede mutar directamente. Esto se puede conseguir por medio de un tratamiento mutagénico. Alternativamente, un gen *DMR6* modificado se puede introducir en la planta por medio de técnicas transgénicas o mediante introgresión, o la expresión de DMR6 se puede reducir en el nivel regulador, por ejemplo mediante la modificación de las secuencias reguladoras o mediante silenciamiento del gen.

10 Un nivel reducido de la proteína DMR6 es el resultado de una mutación en el gen *DMR6* dando como resultado una expresión reducida de DMR6 en comparación con el gen *DMR6* silvestre en donde no está presente tal mutación, o dando como resultado una estabilidad reducida de ARNm o proteína. En una realización particular esto se consigue mediante mutaciones en la secuencia codificadora de DMR6 que da como resultado una proteína DMR6 no funcional, es decir, sin o con actividad enzimática reducida.

15 En otra realización de la invención, la expresión reducida se puede conseguir mediante regulación a la baja de la expresión del gen *DMR6* o bien a nivel transcripcional o de traducción, por ejemplo, mediante silenciamiento del gen o mediante mutaciones que afecten a la expresión del gen *DMR6*.

Para conseguir un nivel reducido de proteína DMR6, la expresión del gen *DMR6* se puede regular a la baja o se puede reducir la actividad enzimática de la proteína DMR6 mediante sustituciones de amino ácidos resultantes a partir de los cambios de nucleótido en la secuencia codificadora de DMR6.

20 En una realización particular de la invención, la regulación a la baja de la expresión del gen *DMR6* se consigue mediante silenciamiento del gen usando ARNi. Para esto, se generan plantas transgénicas que expresan una construcción antisentido DMR6, una construcción micro ARN optimizada, una construcción repetida invertida, o una construcción sentido-antisentido combinada, para generar ARNs que corresponde a *DMR6* que conduce a silenciamiento del gen.

25 La regulación a la baja del gen *DMR6* también se puede conseguir mediante mutagénesis de los elementos reguladores en la región promotor, terminador, o intrones potenciales. Las mutaciones en la secuencia codificadora de *DMR6* en muchos casos conducen a sustituciones de aminoácidos o condones de parada prematuros que afectan negativamente a la expresión o actividad de la proteína DMR6 codificada.

30 Estas mutaciones están inducidas en las plantas mediante el uso de compuestos químicos mutagénicos tales como el metanosulfonato de etilo (EMS, del Inglés "Ethyl Methane Sulfonate"), mediante irradiación de material vegetal con rayos gama o neutrones rápidos, o mediante otros medios. Los cambios de nucleótido resultantes son al azar, pero en una colección grande de plantas mutagenizadas las mutaciones en el gen *DMR6* pueden ser fácilmente identificadas mediante el uso del método TILLING (del Inglés "Targeting Induced Local Lesions In Genomes", "Etiquetado de lesiones locales inducidas en Genomas") (McCallum et al. (2000) *Targeted screening for induced mutations*. *Nat. Biotechnol.* 18, 455-457, y Henikoff et al. (2004) *TILLING. Traditional mutagenesis meets functional genomics*. *Plant Physiol.* 135, 630-636). El principio de este método se basa en la amplificación por PCR del gen de interés a partir del ADN genómico de una gran colección de plantas mutagenizadas en la generación M2. Mediante secuenciación de ADN o mediante búsqueda de mutaciones puntuales usando una nucleasa específica a cadena sencilla, tal como la nucleasa CEL-I (Till et al. (2004) *Mismatch cleavage by single-strand specific nucleases*. *Nucleic Acids Res.* 32, 2.632-2.641) se identifican las plantas individuales que tienen una mutación en el gen de interés.

35 Mediante la investigación de muchas plantas, se obtiene una gran colección de alelos mutantes, dando cada uno un efecto diferente sobre la expresión del gen o la actividad de la enzima. La expresión del gen o los niveles de proteína se pueden, por ejemplo, ensayar mediante análisis de los niveles de transcrito de *DMR6* (por ejemplo mediante RT-PCR) o mediante cuantificación de los niveles de proteína DMR6 con anticuerpos.

45 Las plantas con el nivel de DMR6 reducido deseado o la expresión de *DMR6* se someten a retrocruzamiento o cruzamiento con otras líneas de cultivo para transferir solamente el nuevo alelo deseado en el fondo del cultivo deseado.

50 Está descrito el uso de un promotor de *DMR6* para proporcionar la resistencia a enfermedad en plantas. Se ha demostrado la regulación transcripcional al alta de DMR6 en respuesta a la infección de *Peronospora farinosa*. Tanto el análisis del transcrito así como las líneas indicadoras del promotor de *DMR6* soportan este descubrimiento (véase el Ejemplo 1, de a continuación). Así, el promotor de *DMR6* inducible por patógeno es particularmente útil para controlar la expresión de los sistemas inducibles que conducen a la resistencia a enfermedad en plantas.

55 Un ejemplo de tal sistema inducible que conduce a la resistencia a enfermedad en plantas, y en el cual el promotor de *DMR6* puede ser eficaz, se ha descrito por ejemplo en el documento WO 99/45125, en donde una secuencia de nucleótidos antisentido para un gen implicado en la regulación de la ruta metabólica de porfirina C-5 está unido de manera operable a un promotor inducible por patógeno y se usa para transformar las células vegetales. La expresión

de la secuencia de nucleótidos antisentido en respuesta al patógeno interrumpe eficazmente el metabolismo de porfirina de la célula vegetal transformada, y el desarrollo de una lesión localizada en donde se contiene la propagación del patógeno. El documento WO 96/36697 también describe sistemas inducibles que conducen a la resistencia a enfermedad en plantas, en donde un promotor inducible controla la expresión de una proteína capaz de evocar la respuesta de hipersensibilidad en una planta. La Patente Europea EP 0474857 describe además un método para la inducción de la resistencia a patógeno en plantas, que comprende la transformación de plantas con secuencias de polinucleótidos que codifican un par de gen de avirulencia derivado de patógeno/gen de resistencia derivado de planta, en donde la expresión de uno o de ambos el péptido desencadenante y el gen de resistencia está regulada por un promotor inducible por patógeno. Ejemplos adicionales de sistemas inducibles que conducen a la resistencia a patógenos en plantas se han descrito en por ejemplo el documento WO 98/32325.

Está descrito un método para proporcionar resistencia a enfermedad en una planta, que comprende la transformación de una célula vegetal con una construcción de ADN que comprende al menos un ácido nucleico expresable que está unido de manera operable a un promotor inducible por patógeno que es operable dentro de una célula vegetal, y la regeneración de las plantas transformadas a partir de dichas células vegetales, en donde el promotor inducible por patógeno es un promotor de *DMR6*, y en donde la expresión del ácido nucleico expresable confiere resistencia a enfermedad a la planta transgénica.

Están descritas las plantas de resistencia a enfermedad, obtenibles mediante dicho método, así como tejido vegetal, y semillas obtenidos a partir de dichas plantas.

Están descritas plantas, las cuales son resistentes a un patógeno de origen vírico, bacteriano, fúngico u oomycete, en donde la planta comprende en su genoma una construcción de ADN, que comprende al menos un ácido nucleico expresable que está unido de manera operable a un promotor inducible por patógeno, en donde el promotor inducible por patógeno es un promotor de *DMR6*.

Descrito está la construcción de ADN *per se*, que comprende al menos un ácido nucleico expresable que está unido de manera operable a un promotor inducible por patógeno, en donde el promotor inducible por patógeno es un promotor de *DMR6*. La construcción se puede usar para transformar células vegetales que se pueden regenerar dentro de las plantas transformadas. Además, se pueden obtener tejido vegetal y semilla transformados. Métodos adecuados para la introducción de la construcción dentro de las células vegetales son conocidos por los expertos en la técnica.

Por "unido de manera operable" se quiere decir que un promotor y un ácido nucleico expresable, por ejemplo un gen, están conectados de tal manera que permite la iniciación de la transcripción del ácido nucleico expresable (por ejemplo, gen) mediante el promotor.

Por "ácido nucleico expresable" se quiere decir un ácido nucleico (por ejemplo, un gen, o parte de un gen) que se puede expresar en la célula, es decir, que se puede transcribir en ARNm, y finalmente se puede traducir en una proteína. El ácido nucleico expresable puede ser ADN genómico, ADNc, o ADN químicamente sintetizado o cualquiera de sus combinaciones.

Una construcción de ADN comprende todos los elementos del ácido nucleico necesarios que permiten la expresión (es decir, la transcripción) de un ácido nucleico particular en una célula. Generalmente, la construcción incluye un ácido nucleico expresable, es decir, un ácido nucleico a transcribir, y un promotor. La construcción se puede incorporar adecuadamente en por ejemplo un plásmido o vector.

El ácido nucleico expresable preferiblemente puede ser un gen implicado en una respuesta de defensa de la planta, por ejemplo, un gen asociado a la respuesta de hipersensibilidad de una planta. En la respuesta de hipersensibilidad (HR, del Inglés "Hypersensitivity response") de una planta, el sitio en la planta donde el patógeno invade experimenta muerte celular localizada mediante la expresión inducida de un mecanismo de suicidio que desencadena dicha muerte celular localizada en respuesta a los patógenos. De esta manera, solamente unas pocas células vegetales son sacrificadas y se detiene eficazmente la propagación del patógeno. Ejemplos de dichos genes implicados en una respuesta de defensa de la planta son la proteína reguladora NPR1/NIM1 (Friedrich et al. *Mol. Plant Microbe Interact.* 14(9):1.114-1.124, 2001) y el factor de transcripción MYB30 (Vailleau et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99(15): 10.179-10.184, 2002).

El ácido nucleico expresable puede codificar un polipéptido autólogo o heterólogo capaz de conferir resistencia a enfermedad a una planta. Por "péptido autólogo" se quiere decir cualquier polipéptido que es expresado en una célula vegetal transformada a partir de un gen que se da de forma natural en la célula vegetal transformada. Por "polipéptido heterólogo" se quiere decir cualquier polipéptido que sea expresado en una célula vegetal transformada a partir de un gen que es parcialmente o enteramente extraño (es decir no se da de forma natural dentro) a la célula vegetal transformada. Ejemplos de tales polipéptidos son la proteína Bax de mamífero, la cual codifica una proteína proapoptótica y da como resultado muerte celular en plantas (Lacomme and Santa Cruz, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96(14): 7.956-61, 1999) y quitinasas fúngicas (de las Mercedes Dana et al., *Plant Physiol.* 142(2): 722-730, 2006).

El promotor de *DMR6* puede ser el promotor de *DMR6* de *Arabidopsis*. El promotor de *DMR6* comprende una región de 3.000 pb que está en dirección 5' ("upstream") de la secuencia codificadora de *DMR6* de *Arabidopsis* (codón de

inicio ATG) e incluye el 5'UTR. El promotor de *DMR6* puede comprender una secuencia de nucleótidos como la definida en la Figura 11, y/o cualquiera de sus fragmentos funcionales, es decir, cualquier fragmento (o parte) de dicha secuencia que aún es capaz de iniciar la transcripción del (de los) ácido(s) nucleico(s) expresable(s) al (a los) cual(es) se une de manera operable, y/o sus variantes naturales, es decir, variantes naturales de este promotor que pueden contener pequeños polimorfismos, pero las cuales son generalmente al menos idénticas al 90%.

El promotor de *DMR6* puede ser un promotor de *DMR6* ortólogo, es decir, un promotor de un gen *DMR6* ortólogo. Los métodos para identificar los ortólogos de *DMR6* han sido descritos más adelante en el Ejemplo 2. Una vez que los ortólogos de *DMR6* se han identificado, el experto será capaz de aislar el respectivo promotor de dichos ortólogos, usando técnicas biológicas moleculares estándar.

Se ha demostrado que el promotor de *DMR6* está fuertemente inducido por patógeno, y el promotor de *DMR6* no está altamente expresado en otros tejidos no infectados. Por tanto, es un promotor muy adecuado para usarse en sistemas inducibles para proporcionar resistencia a patógenos de origen vírico, bacteriano, fúngico o de oomycete en plantas. Anteriormente se han dado ejemplos de patógenos específicos y plantas para el sistema inducible, que usa el promotor de *DMR6*.

La presente invención está ilustrada en los siguientes ejemplos. En los ejemplos la referencia se hace a las siguientes figuras.

La Tabla 1 muestra los números de acceso de Genbank y los identificadores de GenInfo del ARNm de *DMR6* de *Arabidopsis* y secuencias ortólogas de otras especies de plantas.

La Tabla 2 muestra los cebadores ("primer") de PCR para los marcadores usados para la clonación basada en mapa de *DMR6*.

La Tabla 3 muestra pares de cebador para la clonación de ortólogos de *dmr6* en un vector de expresión vegetal adecuado.

La Figura 1 muestra la alineación de las secuencias de aminoácidos de la proteína *DMR6* de *Arabidopsis thaliana* y ortólogos de especies de *Aquilegia*, *Citrus sinensis*, *Coffea canephora*, *Cucumis sativus*, *Gossypium hirsutum*, *Lactuca sativa*, *Medicago truncatula*, *Oryza sativa* (3), *Populus trichocarpa* (2), *Solanum lycopersicum* (2), *Sorghum bicolor*, *Spinacia oleracea*, *Vitis vinifera*, *Zea mays* y *Zingiber officinale*, usando el programa de alineación de secuencia múltiple CLUSTAL W (1.83) (EBI). Por debajo de las secuencias los aminoácidos conservados están indicados por los puntos, y los aminoácidos idénticos están indicados por los asteriscos.

La Figura 2 muestra la secuencia de nucleótidos y aminoácidos del gen *DMR6* (At5g24530, gi 42568064, Genbank NM_122361) y proteína (gi 15238567, Genbank NP_197841) de *Arabidopsis thaliana*, respectivamente.

La Figura 3 muestra la secuencia de nucleótidos y aminoácidos derivada del ortólogo de *DMR6* de *Lactuca sativa*, respectivamente.

La Figura 4 muestra la secuencia de nucleótidos y aminoácidos derivada del ortólogo de *DMR6* de *Spinacia oleracea*, respectivamente.

La Figura 5 muestra la secuencia de nucleótidos y aminoácidos derivada del ortólogo de *DMR6* de *Cucumis sativus* y *Cucumis melo*.

La Figura 6 muestra la resistencia a mildiu de los mutantes *dmr6* de *Arabidopsis*. (a) Cuantificación de esporangióforos del aislado Waco9 de *H. parasitica*, 7 días después de la inoculación, sobre el mutante *dmr6-1* (BC₂, línea E37) comparado con su línea parental *Ler eds1-2* y sobre el mutante *dmr6-2* (línea de ADN-T FLAG_445D09) comparado con su línea parental Ws-4. (b) Restauración de la susceptibilidad mediante la complementación con el gen At5g24530 en el mutante *dmr6-1*. Las esporas de *H. parasitica* por mg de peso de plántula se cuantificaron sobre *Ler eds1-2*, *dmr6-1* y 5 líneas de complementación (Nº 121, 122, 211, 231 y 241).

La Figura 7 muestra la estructura del gen *DMR6* de *Arabidopsis* y las mutaciones *dmr6-1* y *dmr6-2*. El gen *DMR6* contiene cuatro exones y una secuencia codificadora de 1.026 bases. Los dos alelos están indicados; *dmr6-1* con un cambio de base en el exón 2, y *dmr6-2* con una inserción de ADN-T en el intrón 2.

La Figura 8 muestra los niveles de transcrito relativos de *DMR6* en plantas *Ler* o bien tratadas como simulación ("mock") o inoculadas con un aislado de *H. parasitica* compatible o incompatible. Los niveles de transcrito se determinaron en diferentes días después de la inoculación. La diferencia en los valores umbral del ciclo (Δ CT, del Inglés "Cycle Threshold") refleja el número de ciclos de amplificación por PCR adicionales requeridos para alcanzar una concentración de producto umbral arbitraria en comparación con *ACTIN2*. Un menor valor de Δ CT indica un mayor nivel de transcrito.

La Figura 9 muestra la expresión de la construcción promotor-indicador de *DMR6* (pDMR6::GUS) en líneas de *Arabidopsis* transgénicas, visualizada con solamente X-gluc como sustrato (Figura d y e) o Magenta-Xgluc (Figura a-c) y tinción con azul de tripano del crecimiento de *H. parasitica* (a) *Ler eds1-2* (pDMR6::GUS) 3 dpi con *H. parasitica*,

aislado Cala2. (b) Col-0 (pDMR6::GUS) 3 dpi con *H. parasitica*, aislado Waco9. (c) Ler eds1-2 (pDMR6::GUS) 3 dpi con *H. parasitica*, aislado Emoy2. (d) Col-0 (pDMR6::GUS) 3 dp (días después de) realización de la herida. (e) Col-0 (pDMR6::GUS) 3 dp aplicación de BTH.

La Figura 10 muestra el análisis Q-PCR de los niveles de transcrito de los genes; At4g14365, At1g14880, ACD6, PR-1, PR-2 y PR-5, seleccionados como regulados al alza en el análisis de micromatriz de *dmr6-1*. (a) Los niveles de transcripción de los seis genes en *dmr6-1* comparados con Ler eds1-2 y adicionalmente el transcrito de DMR6. (b) Transcritos de gen elevados de seis genes asociados a defensa en *dmr6-2* frente a Ws-4. Δ CT refleja el número de ciclos de amplificación por PCR adicionales requeridos para alcanzar el nivel de transcritos ACTIN2. Un menor valor de Δ CT indica un mayor nivel de transcrito.

La Figura 11 muestra la secuencia de nucleótidos de la región de 3 kb en dirección 5' del codón de inicio del gen DMR6, (at5g24530) de *Arabidopsis thaliana*, incluyendo el promotor y el 5'-UTR (subrayado).

La Figura 12 muestra la secuencia de nucleótidos y aminoácidos del ortólogo de DMR6 de *Solanum lycopersicum*, respectivamente.

La Figura 13 muestra la secuencia de nucleótidos y aminoácidos del ortólogo de DMR6 de *Nicotiana benthamiana*, respectivamente.

La Figura 14 muestra la complementación de *dmr6-1* de *Arabidopsis thaliana* con DMR6 derivada de *Cucumis sativa* (Cs), *Spinacia oleraceae* (Si), *Lactuca sativa* (Ls) y *Solanum lycopersicum* (So).

EJEMPLO 1

El gen DMR6 de *Arabidopsis* (At5g24530) es requerido para la susceptibilidad a mildiu

Procedimientos experimentales

Crecimiento e infección *Hyaloperonospora parasitica*

El aislado Waco9 de *H. parasitica* fue proporcionado por el Dr. M. Aarts (WUR, Wageningen, NL) y el aislado Cala2 fue proporcionado por el Dr. E. Holub (Warwick HRI, Wellesbourne, UK) y se mantuvieron sobre *Arabidopsis* Ws-0 y Ler, respectivamente. Los inóculos (400.000 esporas por ml) se transfirieron semanalmente a plántulas saludables de 10 días (Holub, E.B. et al., *Mol. Plant Microbe Interact.* 7:223-239, 1994) mediante el uso de una pistola de pulverización. Las plántulas se secaron al aire durante aproximadamente 45 minutos y se incubaron bajo una cubierta sellada a una humedad relativa del 100% en una cámara de crecimiento a 16°C con 9 horas de luz por día (100 mE/m²/s). Se cuantificaron los niveles de esporulación 7 días después de la inoculación (dpi, del inglés "days post inoculation") mediante el recuento del número de esporangióforos por plántula, para al menos 40 plántulas por línea ensayada (Figura 6a) o mediante el aislamiento de esporas en agua 5 dpi y determinación de la concentración de espora para dar el número por mg de tejido foliar (Figura 6b).

Generación de líneas *dmr6* sometidas a retrocruzamiento

Los mutantes *dmr6* se sometieron a retrocruzamiento dos veces (BC₂) con la línea parental Ler eds1-2 así como Ler. Las líneas BC₂ generadas con Ler se seleccionaron por la presencia del gen EDS1 silvestre mediante análisis por PCR.

Clonación de DMR6

El mapeo fino del gen *dmr6* se hizo con marcadores de PCR diseñados usando la base de datos Cereon para identificar las diferencias de inserción y delección (IND) entre Col-0 y Ler. Los marcadores: IND_MOP9 en el gen At5G24210; IND_K16H17 en el gen At5G24420; IND_T4C12 en el gen AtG24820; IND_T11H3 entre los genes AtG24950_60 y IND_F21J6 en el gen AtG25270 se usaron para el mapeo (Tabla 2). Se inició una investigación adicional para los nuevos recombinantes sobre 300 plantas F₂ dando como resultado ocho plantas recombinantes F₂ entre los dos marcadores basados en IND_MOP9 y IND_T4C12, los cuales flanquean una región de 61 genes. Siete marcadores adicionales (M450-M590; Tabla 2) redujeron la región a dieciocho genes candidatos para el locus de *dmr6*, entre At5g24420 y At5g24590. El análisis de secuencia de At5g24530 indicó una mutación puntual que conducía a un codón de parada en el exón 2 en el mutante *dmr6-1*.

Identificación de una línea de inserción de ADN-T de *dmr6*

Se identificó un segundo alelo *dmr6*, 445D09 una línea de inserción de ADN-T FLAG generada por INRA Versailles en el fondo de acceso de Ws-4. La inserción de ADN-T se confirmó por PCR usando un cebador diseñado en el gen At5g24530, cebador LP (5'-caggtttatggcatatctcagtc-3'), en combinación con el cebador del margen derecho de ADN-T, Tag3' (5'-tgatacca gacgttgcccgcataa-3') o RB4 (5'-tcacgggttggggtttctacaggac-3'). Se confirmó la inserción de ADN-T exacta en el segundo intrón de At5g24530 mediante la secuenciación de amplicones generados con los cebadores de ADN-T desde tanto el margen izquierdo como el derecho en combinación con los cebadores

específicos de gen LP o RP (5'-atgtccaagtccaatagccacaag-3').

Síntesis de ADNc

Se aisló ARN (a partir de aproximadamente 100 mg de tejido foliar de plántulas de 10 días) con el kit RNAesy (Qiagen, Venlo, Los Países Bajos) y se trató con el set de DNasa libre de RNasa (Qiagen). Se cuantificó el ARN total usando un espectrofotómetro UVmini-1240 (Shimadzu, Kyoto, Japón). Se sintetizó ADNc con transcriptasa inversa Superscript III (Invitrogen, Carlsbad, Ca, USA) y oligo(dT)15 (Promega, Madison, WI, USA), de acuerdo con las instrucciones de los fabricantes.

Complementación del mutante *dmr6-1*

Se generaron líneas de complementación mediante la transformación de plantas *dmr6* mediante el método de inmersión floral ("floral dip") con *Agrobacterium tumefaciens* (Clough and Bent, 1998) que contenía el gen At5g24530 a partir de Col-0 detrás del promotor 35S. Se generó la construcción mediante amplificación por PCR del At5g24530 de longitud completa del ADNc de Col-0 con cebadores que incluían sitios de restricción que se usaron para la clonación direccional. Un cebador directo (5'-ttctggaatccaATGGCGCAAAGCTGATATC-3') que contenía un sitio de restricción BamHI cerca del codón de inicio (ATG), amplificó el extremo 5' de *DMR6* y en el extremo 3' después del codón de parada se generó un sitio EcoRI con un cebador inverso (5'-gatatat gaattcttagttgttagaaaattctcgagggc-3'). El 35S-*DMR6*-Tn se clonó en el pGreenII0229 (Hellens, R.P., Edwards, E.A., Leyland, N.R., Bean, S., and Mullineaux, P.M. (2000)). *pGreen: a versatile and flexible binary Ti vector for Agrobacterium-mediated plant transformation*. *Plant Mol. Biol.* 42, 819-832). Se aislaron 300 µM de plántulas resistentes a DL-Fosfinotricina (BASTA) y se analizaron para la susceptibilidad a *H. parasitica* y para los niveles de expresión de *DMR6* mediante RT-PCR.

Líneas "knock down" de *DMR6* mediante ARNi

Se generaron líneas de ARNi en el fondo de *Ler eds1-2* y Col-0. Se generó un amplicón de ADNc largo de 782 pb del gen At5g24530 de Col-0. La PCR se hizo con la Phusion ADN polimerasa (2U/µl) y dos combinaciones diferentes de cebador. El amplicón a partir de la primera combinación de cebador específica al gen *DMR6* (RNAiDMR6F: 5' - aaaaagcaggtcGACCGTCCACGTCTCTCTGAA -3' y RNAiDMR6R: 5' - AGAAAGCTGGGTGAAACGATGCGACCGATAGTC -3') se usó como plantilla para la segunda amplificación por PCR con cebadores generales que permiten la recombinación en el vector pDONR7 del sistema de clonación Gateway. Para la segunda PCR se usó 10 µl de la primera PCR (desnaturalización durante 30 seg. a 98°C seguido de 10 ciclos de: 10 seg. a 98°C; 30 seg. a 58°C, 30 seg. a 72°C) en un volumen total de 20 µl como plantilla. La segunda PCR (desnaturalización durante 30 seg. a 98°C seguido de 5 ciclos de: 10 seg. a 98°C; 30 seg. a 45°C, 30 seg. a 72°C y 20 ciclos de 10 seg. a 98°C; 30 seg. a 55°C, 30 seg. a 72°C finalizada por una extensión final de 10 min. a 72°C) con el attB1 (5'-GGGACAAGTTTGTACAAAAAAGCAGGCT-3') y el attB2 (5'-ggggaccactttgtacaa-gaaaactaaat-3') se realizaron en un volumen de reacción de 50 µl. El producto de la PCR era gel purificado y 50 ng de inserto se recombinó con 150 ng de vector pDONR7 con la enzima BP clonase. El vector se transformó en células de *E. coli* electrocompetentes DH5α y se aislaron plásmidos que contenían el inserto correcto y se usaron 100 ng del pDONR7 con el amplicón de *DMR6* en la reacción LR para recombinar el inserto en dos direcciones opuestas en 150 ng de vector pHellsgate8. Después de la transformación en *E. coli*, se seleccionaron los clones resistentes a Espectomicina y se verificaron los plásmidos aislados mediante una digestión con NotI para el tamaño de inserto correcto y mediante PCR de colonia con un cebador interno sencillo para At5G24530 (DfragmentF: 5'-gagaagt-gggatttaaaatagaggaa-3'), si los insertos se insertaran dos veces en direcciones opuestas se podría detectar un amplicón de 1.420 pb. Los plásmidos pHellsgate8 correctos con el doble inserto en direcciones opuestas se transformaron en la cepa de *Agrobacterium* electrocompetente, C58C1. Los plásmidos se aislaron del *Agrobacterium* y se transformaron de nuevo en la *E. coli* para confirmar el tamaño correcto del plásmido y el inserto mediante digestión con NotI. Las cepas de *Agrobacterium* reconfirmadas se usaron para la transformación por inmersión floral de las plantas Col-0 y *Ler eds1-2*. Se investigaron las semillas desarrolladas para resistencia a Kanamicina sobre placas 1/2x GM, las plántulas T1 se transfirieron y la siguiente generación de semillas la T2 se analizó para la expresión de *DMR6* y la susceptibilidad a *H. parasitica*.

Perfilado de la expresión genética del mutante *dmr6*

Se aisló el ARN total tal como se ha descrito anteriormente. El ARNm se amplificó con el kit de ARNa MessageAmp (Ambion). Se hibridaron trozos de la matriz CATMA (Crowe et al., 2003) que contenían aproximadamente 25.000 etiquetas específicas a gen de acuerdo con las condiciones estandarizadas descritas por de Jong et al. (de Jong M., van Breukelen B., Wittink, F.R., Menke, F.L., Weisbeek, P.J., and Van den Ackerviken G. (2006). *Membrane-associated transcripts in Arabidopsis; their isolation and characterization by DNA microarray analysis and bioinformatics*. *Plant J.* 46, 708-721). Para la PCR cuantitativa, se generaron plantillas de ADNc tal como se ha descrito previamente. Se determinaron los umbrales del ciclo por transcrito en triplicado usando el sistema de detección de secuencia ABI PRISM 7700 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) usando SYBR Green I (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) como tinte indicador. Los conjuntos de cebador para los transcritos son

DMR6 (QDMR6F: 5'-TGTCATCAACATAGGTGACCAG-3' y QDMR6R: 5'-CGATAGTCACGGATTTTCTGTG-3'), At1g14880 (QAt1g14880F: 5'-CTCAAGGAGAATGGTCCACA-3' y QAt1g14880R: 5'-CGACTTGGCCAAATGTGATA-3'), At4g14365 (QAt4g14365F: 5'-TGGTTTTCTGAGGCATGTAAA-3' y QAt4g14365R: 5'-AGTGCAGGAACATTGGTTGT-3') ACD6 (QACD6F: 5'-TGGACAGTTCTGGA GCAGAT-3' y QACD6R: 5'-CAACTCCTCCGCTGTGAG-3'), PR-5 (QPR-5F: 5'-GGCAAATATCTCCAGTATTCACA-3' y QPR-5R: 5'-GGTAGGGCAAT TGTTCCTTAGA-3'), PR-2 (QPR-2F: 5'-AAGGAGCTTAGCCTCACCAC-3' y QPR-2R: 5'-GAGGGAAGCAAGAATGGAAC -3'), PR-1 (QPR-1F: 5'-GAACACGTGCAATGGAGTTT-3' y QPR-1 R: 5'-GGTTCACCACTTGTACACCT-3') y ACT-2 (QACT2F: 5'-AATCACAGCACTTGCACCA-3' y QACT2R: 5'-GAGGGAAGCAAGAATGGAAC-3') que generan fragmentos de 100 pares de bases.

10 Resultados

Caracterización del gene responsable para la resistencia a patógeno en el mutante *dmr6*

Van Damme et al., 2005, *supra* describe un mutante *dmr6* que es resistente a *H. parasitica*. El nivel de resistencia se puede examinar mediante el recuento del número de esporangióforos por plántula siete días después de la inoculación con *H. parasitica* (aislado Waco9 o Cala2, obtenida del Dr. G. Van den Ackerveken, *Plant-Microbe Interactions Group*, University of Utrecht, Utrecht, NL). La línea parental, *Ler eds1-2* (Parker et al., 1996, *Plant Cell* 8:2.003-2.046), la cual es altamente susceptible, se usa como control positivo (y se fija al 100%).

La reducción en la formación de esporangióforo sobre los mutantes *dmr6* infectados en comparación con las plántulas de las líneas parentales se muestra en la Fig. 6a, en donde se muestran los resultados de la cuantificación de *Hyaloperonospora parasitica*, esporulación de Waco9 (esporangióforos/plántula) sobre el mutante *dmr6-1* resistente a mildiu, sometido a retrocruzamiento dos veces con la línea parental *Ler eds1-2*, y sobre el mutante *dmr6-2* (línea de ADN-T FLAG_445D09) en comparación con las líneas control.

De acuerdo con la invención, el gen responsable de la resistencia a *H. parasitica* en los mutantes *dmr6* de van Damme et al., 2005, *supra*, ha sido clonado mediante una combinación de mapeo y secuenciación de genes candidatos. Previamente, se mapeó la mutación *dmr6* recesiva cerca del marcador nga139 sobre el cromosoma 5 a una región que abarcaba 74 genes. El mapeo fino unió el locus de *dmr6* con un intervalo de mapeo que contenía los BACs T13K7 y K18P6 entre los marcadores At5g24420 y At5g24590 localizados en los genes correspondientes. Esto permitió que el intervalo de *dmr6* se confinara a una región de 18 genes candidatos. El análisis de secuencia comparativo de los 18 genes en *dmr6* y la línea parental, *Ler eds1-2* reveló una mutación puntual en el segundo exón del gen At5g24530. Este cambio de base sencillo de G a A, típica para una mutación por EMS, cambia un TGG (codón de trp) por un TGA (codón de parada prematuro) en una posición de nucleótido 691 de la secuencia codificadora (Figura 7). El codón de parada temprana trunca la enzima oxidoreductasa prevista de 342 aa en la posición 141 antes del dominio catalítico conservado que sugiere que *dmr6* es un alelo nulo. Se prevé que la secuencia codificadora At5g24530 (Figura 2) codifica una proteína con una masa de 39,4 kDa. Por ahora no se han descrito ninguna regla biológica para At5g24530.

35 At5g24530 es *DMR6*

Un segundo alelo, *dmr6-2*, se identificó en una línea de inserción de ADN-T (FLAG_445D09) de la colección de mutante de INRA, Versailles. La presencia y localización del inserto de ADN-T en el segundo intrón de At5g24530 (Figura 7) se confirmó mediante PCR y análisis de secuencia (datos no mostrados). La progenie del homocigoto de la línea FLAG_445D09 para la inserción de ADN-T era resistente al aislado Waco9 de *H. parasitica*, mientras que la línea parental (Ws-4) era susceptible (Figura 6a). El transcrito de At5g24530 se podía amplificar por RT-PCR usando cebadores en el exón 2 y 3 en Ws-4, pero no en la línea *dmr6-2* homocigota (datos no mostrados), indicando que *dmr6-2* puede ser considerado un segundo alelo nulo.

Para corroborar la idea de que se requiere At5g24530 para la susceptibilidad a *H. parasitica* se transformó el mutante *dmr6-1* con el ADNc del At5g24530 clonado bajo control del promotor 35S. En cinco plántulas T₂ de *dmr6-1* independientes se confirmó la fuerte sobreexpresión de At5g24530 mediante RT-PCR (datos no mostrados). Todas las líneas T₃, homocigotos para el transgen, mostraron restauración de la susceptibilidad a aislado Cala2 de *H. parasitica* (Figura 6b), confirmando que At5g24530 es *DMR6*. La complementación, junto con la identificación de dos mutantes *dmr6* independientes claramente indica que se requiere un gen *DMR6* funcional para la susceptibilidad a *H. parasitica*.

50 *DMR6* es activado transcripcionalmente durante la infección con *H. parasitica*

Para estudiar la expresión de *DMR6* durante la infección con *H. parasitica* se midieron los niveles de transcrito relativos mediante PCR cuantitativa en seis momentos diferentes desde 0 días (2 horas) después de la inoculación hasta 5 días después de la inoculación (dpi) (Figura 8). Se aisló ARN de plántulas *Ler* de diez días que se inocularon por pulverización con agua (simulación), aislado de *H. parasitica* compatible, o incompatible. A las 2 horas después de la inoculación (0 dpi) los niveles de transcritos de *DMR6* eran iguales en los diferentes tratamientos. Comenzando desde 1 dpi, se aumentaba significativamente el nivel de transcrito de *DMR6* en tanto la interacción compatible como

incompatible en comparación con las plántulas tratadas como simulación. El nivel de transcrito de *DMR6* era ligeramente pero significativamente mayor en 1 dpi en la interacción incompatible (ΔCT de 3,5, aproximadamente 11 veces la inducción) que en la compatible (ΔCT de 3,0, aproximadamente 8 veces la inducción). El nivel de expresión aumentó más en el tiempo hasta alcanzar un nivel alto estable a los 4-5 dpi. En estos momentos el nivel de transcrito de *DMR6* era mayor en la interacción compatible que en la incompatible. Los niveles de transcrito de *DMR6* elevados durante las interacciones de *H. parasitica* compatibles e incompatibles sugieren un papel de *DMR6* en la defensa de la planta. La expresión de *DMR6* asociada a defensa se pudo confirmar en nuestros tres mutantes de defensa aumentada, *dmr3*, *dmr4* y *dmr5* (Van den Ackerveken et al., no publicado). Además, el análisis *in silico* de los niveles de *DMR6* en el "Genevestigator Mutant Surveyor" (Zimmermann, P., Henning, L., and Gruissem, W. (2005). *Gene-expression analysis and network discovery using Genevestigator*. *Trends Plant Sci.* 10, 407-409) mostró que el gen está fuertemente inducido en los mutantes resistentes a patógeno *mpk4* y *cpr5*. En el mutante doble *cpr5/npr1* el nivel de transcrito de *DMR6* se mantuvo alto indicando que la inducción de la expresión de *DMR6* es mayoritariamente independiente de *NPR1*. El ácido salicílico parece ser una importante señal en la inducción de la expresión de *DMR6* durante la senescencia ya que las plantas transgénicas *nahG* (que expresan el gen de la salicilato hidroxilasa bacteriana) mostraron solamente bajos niveles de transcrito de *DMR6*.

Para investigar en más detalle cómo se activa la expresión de *DMR6* durante el estrés biótico y abiótico, se generaron líneas indicadoras de *DMR6*. Se estudió la localización de la expresión de *DMR6* en plantas Col-0 y Ler *eds1-2* transgénicas que contenían el promotor de *DMR6* unido al gen indicador *uidA* (β -glucuronidasa, GUS)(p*DMR6::GUS*). Para visualizar tanto el crecimiento hifal de *H. parasitica*, mediante tinción con azul de tripano, así como la actividad de GUS, se usó magenta-Xgluc como sustrato de β -glucuronidasa que produce un precipitado magenta. En plantas no infectadas no se podía detectar la expresión de GUS en los diferentes orgánulos vegetales; raíces, meristema, flor, polen y semilla. La expresión de *DMR6* estaba inducida en las interacciones compatibles, Ler *eds1-2* infectadas con Cala2 (Figura 9a), y Col-0 infectadas con aislado Waco9 (Figura 9b). La expresión de GUS también estaba inducida en la interacción incompatible Ler *eds1-2* inoculadas con aislado Emoy2 (Figura 9c). Tal como se muestra en la figura 9a y 9b la expresión de *DMR6* estaba confinada a las células en las que *H. parasitica* había formado haustorios. Las células vegetales que contenían la mayoría de los haustorios recientemente formados no mostraban niveles detectables de actividad de GUS (Figura 9a, indicado por asterisco). Durante la interacción incompatible (Figura 9c) la actividad del promotor de *DMR6* únicamente se podía detectar en las células que estaban en contacto con la hifa invasora inicial. En las células muertas, resultantes de la respuesta de hipersensibilidad (HR, visualizada mediante tinción con azul de tripano indicada en la Figura 9c por asterisco) no se podía detectar actividad de GUS, posiblemente debido a la degradación de la proteína en estas células. Para ensayar si la expresión de *DMR6* en células que contienen haustorios está causada por una respuesta similar a herida, se dañaron las plántulas mediante incisión con tijeras y se tiñeron para la actividad de GUS 3 días después. No se vio expresión del promotor *DMR6* GUS detectable, indicando que la expresión de *DMR6* no está inducida por herida (Figura 9d). Además se ensayó la inducción local de la expresión de *DMR6* en respuesta a tratamiento con benzotiadiazola (BTH), un análogo funcional de ácido salicílico (SA, del Inglés "Salicylic Acid"). 3 días después del tratamiento con BTH la actividad de GUS estaba localizada principalmente en lo nuevamente formado, pero no en las hojas maduras (Figura 9e). Los análisis de las líneas p*DMR6::GUS* confirman los datos de expresión anteriormente descritos y destaca la inducción estrictamente localizada de *DMR6* en respuesta a infección con *H. parasitica*.

El mutante *dmr6-1* expresa constitutivamente transcritos asociados a defensa

Para elucidar cómo la falta de *DMR6* da como resultado resistencia a *H. parasitica*, se analizó el transcriptoma del mutante *dmr6-1* en comparación con la línea parental Ler *eds1-2*. Las sondas derivadas del ARNm de las partes por encima del nivel del suelo de plántulas *dmr6-1* y Ler *eds1-2* de 14 días se hibridaron sobre micromatrices ("microarrays") CATMA de genoma completo. Se encontró que un total de 58 genes estaban expresados significativamente de manera diferente en *dmr6-1*, de los cuales 51 genes tenían elevado niveles de transcrito y 7 genes lo tenían reducido. Se ha identificado un conjunto pronunciado de los 51 transcritos inducidos como genes asociados con las respuestas activadas de defensa vegetal, por ejemplo, ACD6, PR-5, PR-4/HEL y PAD4. Estos datos indican que la pérdida de *DMR6* da como resultado la activación de un conjunto específico de transcritos asociados a defensa. El descubrimiento de que *DMR6* está entre los genes inducidos por *dmr6-1* corrobora la idea de que *DMR6* está asociado a defensa. Para ensayar si la expresión inducida de los genes asociados a defensa era debida a la pérdida de *DMR6* y no debida a las mutaciones por metanosulfonato de etilo (EMS) adicionales que permanecen en el mutante *dmr6-1* sometido a retrocruzamiento se verificó el nivel de transcrito de una selección de genes (At4g14365, At1g14880, ACD6, PR-1, PR-2 y PR-5) mediante PCR cuantitativa en tanto el mutante *dmr6-1* como el *dmr6-2* (Figura 10). Únicamente pudimos ensayar niveles de transcrito de *DMR6* en el mutante *dmr6-1* (Figura 10a) ya que el mutante *dmr6-2* (Figura 10b) tiene una inserción de ADN-T que altera el transcrito de *DMR6*. Se confirmó la inducción de *DMR6* como la observada en el análisis de micromatriz mediante Q-PCR en *dmr6-1* en comparación con Ler *eds1-2* (Figura 10a). Las Figuras 10a y b muestran que todos los seis genes seleccionados eran elevados en ambos mutantes *dmr6* en comparación con las líneas parentales. La expresión elevada observada de los genes asociados a defensa seleccionados en los mutantes *dmr6* indica que la carencia de *DMR6* activa una respuesta de defensa de la planta. La activación de este conjunto de transcritos asociados a defensa podría ser la causa principal de resistencia a *H. parasitica* en los mutantes *dmr6*.

EJEMPLO 2Identificación de ortólogos de *DMR6* en cultivos

1. Investigación de genotecas en base a la homología de secuencia

Las secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de la secuencia codificadora de *DMR6* y la proteína de *Arabidopsis thaliana* se muestran en la Fig. 2. Se compararon genotecas públicas de secuencias de nucleótidos y aminoácidos en comparación con las secuencias de la Fig. 2. Esta comparación dio como resultado la identificación de las secuencias codificadoras de *DMR6* completas y las secuencias de aminoácidos previstas en especies de *Aquilegia*, *Citrus sinensis*, *Coffea canephora*, *Cucumis sativus*, *Gossypium hirsutum*, *Lactuca sativa*, *Medicago truncatula*, *Oryza sativa* (3), *Populus trichocarpa* (2), *Solanum lycopersicum* (2), *Sorghum bicolor*, *Spinacia oleracea*, *Vitis vinifera*, *Zea mays* y *Zingiber officinale*. La información de secuencia de las proteínas ortólogas identificadas así se dan en la Tabla 1 y se visualizan en una alineación múltiple en la Fig. 1. Para muchas otras especies de plantas se pudieron identificar fragmentos de ADN ortólogo mediante BlastX como los mejores aciertos recíprocos con las secuencias de proteína *DMR6* de *Arabidopsis* u otra planta.

2. Identificación de ortólogos por medio de hibridación heteróloga

Se usa la secuencia de ADN de *DMR6* de *Arabidopsis thaliana* como la mostrada en la Fig. 2 como sonda para buscar secuencias homólogas mediante hibridación con ADN de cualquier especie de planta usando métodos biológicos moleculares estándar. Usando este método se detectan los genes ortólogos mediante hibridación tipo southern sobre ADN digerido por enzima de restricción o mediante hibridación con genotecas genómicas o de ADNc. Estas técnicas son bien conocidas por los expertos en la técnica. Como sonda alternativa se puede usar la secuencia de ADN de *DMR6* de cualquier otra especie de planta más estrechamente relacionada como sonda.

3. Identificación de ortólogos por medio de PCR

Para muchas especies de cultivo, están disponibles secuencias de gen o ARNm de *DMR6* que se usan para diseñar cebadores para posteriormente amplificar por PCR la secuencia genómica o de ADNc completa. Cuando las secuencias 5' y 3' están disponibles se amplifica por PCR la secuencia interna perdida mediante un cebador directo 5' específico a *DMR6* y un cebador inverso 3'. En casos donde únicamente están disponibles las secuencias 5', internas o 3', se diseñan tanto los cebadores directo como inversos. En combinación con los cebadores de clonación múltiple ("polylinker") de plásmido disponibles, se amplifican insertos a partir de genotecas de ADNc y genómicas de la especie de planta de interés. De un modo similar, se amplifican las secuencias 5' y 3' perdidas mediante técnicas de PCR avanzadas; 5'RACE, 3'RACE, TAIL-PCR, RLM-RACE o PCR vectorette.

Como ejemplo se proporciona la secuenciación del ADNc de *DMR6* de *Lactuca sativa* (lechuga). A partir de la base de datos Genbank EST en NCBI se identificaron varias ESTs de *DMR6* de *Lactuca* usando la herramienta tblastn que comienza con la secuencia de aminoácidos de *DMR6* de *Arabidopsis*. La agrupación y alineación de las ESTs dieron como resultado una secuencia consenso para un fragmento de *DMR6* 5'. Para obtener el ADNc de *DMR6* de lechuga completo se usó el kit RLM-RACE (Ambion) sobre el ARNm de las plántulas de lechuga. Se obtuvo la secuencia de ARNm 3' mediante el uso de dos cebadores que estaban diseñados en la secuencia consenso de *DMR6* 5' derivada de las ESTs (Lsat_dmr6_fw1: CGATCAAGGTCAACACATGG y Lsat_dmr6_fw2: TCAACCATTACCCAGTGTGC) y los cebadores 3'RACE del kit. En base a la secuencia reunida se diseñaron nuevos cebadores para amplificar la secuencia codificadora de *DMR6* completa del ADNc para proporcionar la secuencia de nucleótidos y la secuencia de proteína derivada como la presentada en la Figura 3.

Se han identificado las secuencias codificadoras de *DMR6* completas de más de 10 especies vegetales diferentes a partir de las bases de datos genómicas y de EST. A partir de la alineación de las secuencias de ADN, se seleccionaron regiones conservadas en la secuencia codificadora para el diseño de cebadores de oligonucleótidos degenerados (para los nucleótidos degenerados las abreviaturas son de acuerdo con los símbolos de nucleótidos IUB que son códigos estándar usados por todas las compañías que sintetizan oligonucleótidos; G=Guanina, A=Adenina, T=Timina, C=Citosina, R= A o G, Y= C o T, M= A o C, K= G o T, S= C o G, W= A o T, B= C o G o T, D= G o A o T, H= A o C o T, V= A o C o G, N= A o C o G o T).

El procedimiento para obtener secuencias de ADNc de *DMR6* internas de una especie de planta dada es tal como sigue:

1. Se aísla el ARNm usando métodos estándar,
2. se sintetiza el ADNc usando un cebador oligo dT y métodos estándar,
3. usando oligonucleótidos directos e inverso degenerados se lleva a cabo una reacción PCR,
4. se separan los fragmentos de la PCR mediante electroforesis en gel de agarosa estándar y se aíslan fragmentos del tamaño esperado del gel,

5. se clonan los fragmentos de la PCR aislados en un vector plásmido usando métodos estándar,
6. se analizan plásmidos con tamaños de inserto correctos, como los determinados por PCR, mediante secuenciación de ADN,
7. el análisis de secuencia usando blastX revela que los fragmentos contienen las correctas secuencias de *DMR6* internas,
8. la secuencia de ADN interna a continuación se puede usar para diseñar cebadores específicos a gen y a especie para 5' y 3' RACE para obtener la secuencia codificadora de *DMR6* completa mediante RLM-RACE (tal como se ha descrito anteriormente).

Como ejemplo se proporciona la secuenciación del ADNc de *DMR6* de *Cucumis sativus* (pepino). Para el pepino diversas combinaciones de cebador entre los siguientes cebadores fueron exitosas en la amplificación de un tramo de la secuencia codificadora interna de ADNc; cebadores directos dmr6_deg_fw1 B (TTCCAGGTDATTAAYCAYGG), dmr6_deg_fw2B (CATAAYT GGAGRGAYTAYCT), dmr6_deg_fw3B (GARCAAGGRCARCAYATGGC) y dmr6_deg_fw4 (AATCCTCCT TCHTTCAAGGA) y cebadores inversos dmr6_deg_rv3B (AGTGCATTGGGTCHGTRTG), dmr6_deg_rv4 (AATGTTRATGACAAARGCAT) y dmr6_deg_rv5 (GCCATRTGYTGYCC TTGYTC). Después de la clonación y secuenciación de los fragmentos amplificados se diseñaron cebadores específicos a *DMR6* de pepino para 5' RACE (Cuc_dmr6_rv1: TCCGGACATT GAAACTTGTG y Cuc_dmr6_rv2: TC AAAGAACTGCTTGCCAAC) y 3' RACE (Cuc_dmr6_fw1: CGCACTCACCAT TCTCCTTC y Cuc_dmr6_fw2: GGCCTCCAAGTCCTCAAAG). Finalmente se amplificó y secuenció la secuencia completa de ADNc de *DMR6* de pepino (Figura 5). Se usó un planteamiento similar para espinaca, *Spinacia oleracea* (Figura 4), *Solanum lycopersicum* (Figura 12) y *Nicotiana benthamiana* (Figura 13).

Los ortólogos identificados tal como se describe en este ejemplo se pueden modificar usando técnicas bien conocidas para inducir mutaciones que reducen la expresión o la actividad de *DMR6*, para obtener plantas no modificadas genéticamente resistentes a Fungi u Oomycota. Alternativamente, la información genética de los ortólogos se puede usar para diseñar vehículos para silenciamiento de genes y para transformar las correspondientes plantas de cultivo para obtener plantas que sean resistentes a Oomycota.

EJEMPLO 3

Mutación de semillas

Las semillas de la especie de planta de interés se trataron con un mutágeno para introducir mutaciones puntuales al azar en el genoma. Se dejan crecer las plantas mutadas hasta producir semillas y en la próxima generación se investiga la ausencia de reducción de niveles de transcrito de *DMR6* o actividad. Esto se consigue mediante seguimiento del nivel de la expresión del gen *DMR6*, o mediante búsqueda de los cambios de nucleótidos (mutaciones) mediante el método TILLING, mediante secuenciación de ADN, o mediante cualquier otro método para identificar cambios de nucleótido. Las plantas seleccionadas son homocigotas o hechas homocigotas mediante auto o entrecruzamiento. Las plantas homocigotas seleccionadas con ausencia o actividad de transcrito de *DMR6* reducida se ensayaron para resistencia aumentada al patógeno de interés para confirmar la resistencia aumentada a enfermedad.

EJEMPLO 4

Transferencia de un alelo mutado en el fondo de un cultivo deseado

La introgresión del alelo mutante deseado en un cultivo se consigue mediante el cruzamiento y la investigación genotípica del alelo mutante. Esto es un procedimiento estándar en el cultivo de cultivos asistido por marcador de hoy en día.

EJEMPLO 5

Uso del promotor de *DMR6* para la expresión del gen inducida por patógeno y la generación de plantas resistentes a enfermedad

El control preciso de la expresión de transgen es fundamental para la modificación por ingeniería de plantas con resistencia a enfermedad aumentada. En el pasado, la sobreexpresión constitutiva de transgenes frecuentemente ha dado como resultado plantas de escasa calidad. Por lo tanto, se ha sugerido el uso de promotores inducibles por patógeno, mediante los cuales los transgenes se expresan únicamente cuando y donde se necesitan - en los sitios de infección.

La expresión local e inducible de los genes modificados por ingeniería, por ejemplo, genes "interruptores maestros" ("master switch"), genes desencadenantes o Avr, genes antimicrobianos o genes tóxicos, da como resultado la activación de la defensa o la muerte celular que conducirá a la resistencia a patógeno, tal como está descrito por Gurr and Rushton (*Trends in Biotechnology* 23: 275-282, 2005). Un buen ejemplo está proporcionado por De wit

(*Annu. Rev. Phytopathol.* 30: 391-418, 1992) quien propone el uso de la combinación Avr9-Cf9 para conseguir la muerte celular inducida que conduce a la resistencia a enfermedad. La especificidad a tejido y la inducibilidad de la expresión es de principal importancia para tales enfoques, tal como está descrito por Gurr and Rushton (*Trends in Biotechnology* 23: 283-290, 2005).

De acuerdo con la presente invención, se ha demostrado que el promotor de *DMR6* muestra una expresión fuerte, inducible y localizada basada en el análisis de promotor-GUS. Por tanto, el promotor de *DMR6* es muy adecuado para la modificación por ingeniería de la resistencia a enfermedad en plantas transgénicas. El promotor de *DMR6* consiste en una región de 2,5 kb que está en dirección 5' de la secuencia codificadora de *DMR6* de *Arabidopsis* (codón de inicio ATG) e incluye el 5'UTR (tal como se representa en la Figura 11). A continuación, se usa el promotor inducible por patógeno para modificar por ingeniería las construcciones de transgen adecuadas, usando técnicas estándar conocidas por los expertos en la técnica.

Usando secuencias de ADN ortólogas de una especie de planta dada se diseñan cebadores para PCR. Estos a continuación se usan para investigar las genotecas genómicas de la especie de planta de interés para identificar los clones genómicos que contienen el ortólogo de *DMR6* con su promotor y las secuencias reguladoras. Alternativamente, se aíslan los clones genómicos mediante investigación de una genoteca con un fragmento de PCR marcado que corresponde al gen ortólogo *DMR6*. La secuenciación revela la secuencia de nucleótidos del promotor. A continuación, se amplifica por PCR la región de 2-5 kb en dirección 5' de la secuencia codificadora ortóloga de *DMR6* (codón de inicio ATG), incluyendo también el 5'UTR, para modificar por ingeniería las construcciones de transgen para la transformación de la planta.

EJEMPLO 6

Este ejemplo demuestra la complementación del mutante *dmr6-1* en *Arabidopsis thaliana* mediante ortólogos de *DMR6* de 4 especies diferentes de cultivo. Para esto, los ortólogos de *DMR6* de *Cucumis sativa* (Cs), *Spinacia oleracea* (So), *Lactuca sativa* (Ls) y *Solanum lycopersicum* (SL) se clonaron en un vector de expresión vegetal bajo el control del promotor 35S y, posteriormente, este vector se transformó en un mutante *dmr6-1* de *Arabidopsis thaliana*.

En resumen, se aisló ARNm usando métodos estándar y se sintetizó ADNc usando un cebador oligo dT y métodos estándar. Posteriormente, se generaron fragmentos de PCR usando pares de cebador para cada cultivo como los representados en la tabla 3 de más adelante. Los productos de PCR generados se clonaron en un vector pENTR/D-TOPO usando el kit de clonación de pENTR/D-TOPO de Invitrogen y los plásmidos resultantes con tamaños de inserto correctos, tal como lo determinado por PCR, se analizaron por secuenciación de ADN. La recombinación con el vector pB7WG2,0 se hizo usando la LR clonasa II de Invitrogen y los plásmidos resultantes se analizaron por PCR y la digestión con enzimas de restricción. Los plásmidos adecuados se transformaron en *Agrobacterium tumefaciens* C58C1 PGV2260 y los plásmidos de *Agrobacterium* se analizaron mediante PCR y la digestión con enzimas de restricción.

Se transformaron plantas *dmr6-1* de *Arabidopsis thaliana* con las anteriores construcciones al sumergirlas en disolución de *Agrobacterium* y se verificó la sobreexposición de *DMR6* de cultivos en plantas T1 de *Arabidopsis* mediante RT-PCR usando los cebadores de clonación de *DMR6* de cultivos (tabla 3). Finalmente, se infectaron plantas de *Arabidopsis* T2 y T3 con *Hyaloperonospora parasitica* Cala2 para confirmar la complementación. Los resultados se muestran en la figura 14.

Tal como se muestra en la figura 14, todos los ortólogos de *DMR6* ensayados eran capaces de complementación de mutante *dmr6-1* de *Arabidopsis thaliana* indicando que los ortólogos de *DMR6* identificados codifican proteínas *DMR6* con una funcionalidad similar a la *DMR6* de *Arabidopsis thaliana*.

TABLAS

La Tabla 1 enumera los números GI (del Inglés "GenInfo identifier") y los números de acceso de GenBank para las Etiquetas de Secuencia Expresadas (ESTs, del Inglés "Expressed Sequence Tags") y secuencias de ARNm o proteína de *DMR6* de *Arabidopsis* el ARNm y las secuencias ortólogas de otras especies de plantas. Un número GI (identificador de genInfo, a veces escrito en letras minúsculas, "gi") es un número entero único que identifica una secuencia particular. El número GI es una serie de dígitos que se asignan consecutivamente a cada registro de secuencia procesado por NCBI. Por tanto, el número GI cambiará cada vez que la secuencia cambie. NCBI asigna los números GI a todas las secuencias procesadas en Entrez, incluyendo las secuencias de nucleótidos de DDBJ/EMBL/GenBank, las secuencias de proteína de SWISS-PROT, PIR y muchos otros. El número GI proporciona así un identificador de secuencia único que es independiente de la fuente de la base de datos que especifica una secuencia exacta. Si se modifica una secuencia en GenBank, incluso por un único par de bases, se asigna un nuevo número GI a la secuencia actualizada. El número de acceso permanece igual. El número GI es siempre estable y recuperable. Por tanto, la referencia a los números GI en la tabla proporciona una identificación clara e inequívoca de la correspondiente secuencia.

Tabla 1

Especie	Nombre Común	Detalle	Número GI	Genbank
<i>Arabidopsis thaliana</i>	"Thale cress"	ARNm	42568064	NM_122361
<i>Aquilegia sp.</i>	Aquilegia	ESTs	75461114	DT768847.1
			74538666	DT745001.1
			74562677	DT760187.1
			75461112	DT768846.1
			74562675	DT760186.1
<i>Citrus sinensis</i>	Naranja dulce	ESTs	5793134	CX672037.1
			57933368	CX673829.1
			63078039	CX309185.1
<i>Coffea canephora</i>	Café	ESTs	82485203	DV705375.1
			82458236	DV684837.1
			82461999	DV688600.1
			82487627	DV707799.1
<i>Gossypium hirsutum</i>	Algodón	ESTs	109842586	DW241146.1
			48751103	CO081622.1
<i>Sorghum bicolor</i>	Sorgo	ESTs	45992638	CN150358.1
			57813436	CX614669.1
			45985339	CN145819.1
			57821006	CX622219.1
			45989371	CN148311.1
			57821495	CX622708.1
			45959033	CN130459.1
			45985193	CN145752.1
			18058986	BM322209.1
			45958822	CN130381.1
			30164583	CB928312.1
<i>Medicago truncatula</i>	Carretón	Boceto de genoma proteína		MtrDRAFT_
			92878635	ABE85154
<i>Oryza sativa 1</i>	Arroz	Genoma		OSJNBb0060105.4
		proteína	18057095	AAL58118.1
<i>Oryza sativa 2</i>		ARNm	115450396	NM_001055334
		proteína	115450397	NP_001048799
Especie	Nombre Común	Detalle	Número GI	Genbank
<i>Oryza sativa 3</i>		ARNm	115460101	NM_001060186

ES 2 560 677 T3

		proteína	115460102	NP_001053651
<i>Populus trichocarpa</i> 1	Chopo	Genoma: LG_XII:3095392-3103694		
		proteína: Poptr1_1:569679, eugen3.00120332		
<i>Populus trichocarpa</i> 2	Chopo	Genoma: LG_XV:201426-209590		
		proteína: Poptr1_1:732726, estExt_Genewise1_v1.C_LG_XV0083		
<i>Solanum lycopersicum</i> 1	Tomate	ESTs	62932307	BW689896.1
			58229384	BP885913.1
			117682646	DB678879.1
			5894550	AW035794.1
			117708809	DB703617.1
			62934028	BW691617.1
			15197716	BI422913.1
			4381742	AI486371.1
			5601946	AI896044.1
			4387964	AI484040.1
			4383017	AI487646.
			5278230	AI780189.1
			12633558	BG133370.1
			76572794	DV105461.1
			117692514	DB718569.1
			4385331	AI489960.1
			4383253	AI487882.1
			4384827	AI489456.1
<i>Solanum lycopersicum</i> 2	Tomate	ESTs	47104686	BT013271.1
			14685038	BI207314.1
			14684816	BI207092.1
<i>Zea mays</i>	Maíz	ESTs	110215403	EC897301.1
			76291496	DV031064.1
			91050479	EB160897.1
			91874282	EB404239.1
Especie	Nombre Común	Detalle	Número GI	Genbank
			110540753	EE044673.1
			78111856	DV530253.1

ES 2 560 677 T3

			94477588	EB706546.1
			71441483	DR822533.1
			78111699	DV530096.1
			78107139	DV525557.1
			76017449	DT944619.1
			91048249	EB158667.1
			78104908	DV523326.1
			78088214	DV516607.1
			76291495	DV031063.1
			71441482	DR822532.1
			78088213	DV516606.1
<i>Vitis vinifera</i>	Uva	ESTs	33396402	CF202029.1
			33399765	CF205392.1
			45770972	CN006824.1
			45770784	CN006636.1
			45770528	CN006380.1
			45770631	CN006483.1
			33400623	CF206250.1
			33396335	CF201962.1
			30134763	CB920101.1
			30305300	CB982094.1
			71857419	DT006474.1
			30305235	CB982029.1
<i>Zingiberofficinale</i>	Gengibre	ESTs	87108948	DY375732.1
			87095447	DY362231.1
			87095448	DY362232.1
			87094804	DY361588.1
			87095449	DY362233.1
			87094803	DY361587.1
<i>Lactuca sativa</i>	Lechuga	Secuencia descrita en esta solicitud de patente		
<i>Spinacia oleracea</i>	Espinaca	Secuencia descrita en esta solicitud de patente		
<i>Cucumis sativus</i>	Pepino	Secuencia descrita en esta solicitud de patente		
Especie	Nombre Común	Detalle	Número GI	Genbank
<i>Nicotiana benthamiana</i>	Tabaco	Secuencia descrita en esta solicitud de patente		

Tabla2

Secuencias de cebador de marcadores de inserción/delección (diferencia de tamaño entre paréntesis) usados en el mapeo y clonación del gen <i>DMR6</i>				
Nombre del cebador	Gen	INDEL/enzima	Cebador directo	Cebador inverso
IND_MOP9	At5G24210		tttggaacagaaaaagtt ggaggt	catattcaaaagggaaaatcc caga
IND_K16H17	At5g24420		tggggttggtttattctgtg ac	tggccaatagtagtgatacgc aaga
IND_T4C12	At5g24820		tctcgggtaagacacaagt cgagat	tattccaacttgcgacgtagagc at
IND_T11H3	At5g24950-60		ccaattgggttattacttga tt	cggttttaacaacatatttcca
IND_F21J6	At5g25270		aacacatcaccaagatga atccaga	cctctgccccagaatatattga gat
M450	At5G24450	18	agctttgatgtagtgccaa tga	gcggtatacgggggttaaatac ta
M490	At5g24490	TaqI	atggccaaccactctttgta c	acaagcaagaagaacagcg aag
M525	At5g24520-30	TaqI	gaaattgggtgttggcattta tc	tcaagatctcatattctcattcca
M545	At5G24540/50	41	cagctgaagtatgttcatcc cttt	cttgcaattgtgggactaggt a
M555	At5G24550/60	14	tcactaaccagtgaaaaag gttgc	tatacagcgaatagcaaagcc aag
M470	At5g24470	HphI	ccgcgagtgtaatatattctt cct	cagtttaacgcatgaagtgt gt
M590	At5g24590	Pdml	gcattcattgtaccgtactga gtc	tagtggatactctgtccctgagg t

Tabla 3

Pares de cebador para clonación de ortólogos de <i>dmr6</i> en un vector de expresión vegetal adecuado		
<i>Arabidopsis thaliana</i>	AtDMR6_fw	CACCATGGCGGCAAAGCTGATA
	AtDMR6UTR_rv	GACAAACACAAAGGCCAAAGA
<i>Cucumis sativa</i>	cuc_fw	CACCATGAGCAGTGTGATGGAGAT
	cucUTR_rv	TGGGCCAAAAAGTTTATCCA
<i>Spinacia oleracea</i>	spi_fw	CACCATGGCAAACAAGATATTATCCA C
	spiUTR_rv	TTGCTGCCTACAAAAGTACAAA
<i>Lactuca sativa</i>	Lsat_fw	CACCATGGCCGCAAAAGTCATCTC
	LsatUTR_rv	CATGGAAACACATATTCCTTCA
<i>Solanum lycopersicum</i>	Slyc1dmr6_fw	CACCATGGAAACCAAAGTTATTCTA GC
	Slyc1dmr6UTR_rv	GGGACATCCCTATGAACCAA

Listado de secuencias

<110> Enza Zaden Beheer B.V.
VAN DAMME, Mireille Maria Augusta
5 VAN DEN ACKERVEKEN, Augustinus Franciscus Johannes Maria

<120> PLANTAS RESISTENTES A ENFERMEDADES

<130> 4/2MG88/24A
10

<150> PCT/EP2007/050976
<151> 01-02-2007

<160> 98
15

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1
<211> 33
20 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> cebador directo
25

<400> 1

ttctgggatc caatggcggc aaagcttgat atc 33

30 <210> 2
<211> 39
<212> ADN
<213> Artificial

35 <220>
<223> cebador inverso

<400> 2

40 gatatatgaa ttcttagtg ttagaaaat tctcgaggc 39

<210> 3
<211> 33
<212> ADN
45 <213> Artificial

<220>
<223> RNAiDMR6F

50 <400> 3

aaaaagcagg ctgaccgtcc acgtctctct gaa 33

<210> 4
55 <211> 33
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
60 <223> RANiDMR6R

<400> 4

agaaagctgg gtgaaacgat gcgaccgata gtc 33

65 <210> 5

<211> 29
 <212> ADN
 <213> Artificial
 5 <220>
 <223> attB1
 <400> 5
 10 ggggacaagt ttgtacaaaa aagcaggct 29
 <210> 6
 <211> 29
 <212> ADN
 15 <213> Artificial
 <220>
 <223> attB2
 20 <400> 6
 ggggaccact ttgtacaaga aagctgggt 29
 <210> 7
 25 <211> 26
 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 30 <223> cebador interno para At5G24530
 <400> 7
 gagaagtggg atttaaaata gaggaa 26
 35 <210> 8
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Artificial
 40 <220>
 <223> QDMR6F
 <400> 8
 45 tgtcatcaac ataggtgacc ag 22
 <210> 9
 <211> 22
 50 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 <223> QDMR6R
 55 <400> 9
 cgatagtcac ggatttctg tg 22
 60 <210> 10
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Artificial
 65 <220>
 <223> QAt1g114880F

<400> 10
 5 ctcaaggaga atgtccaca 20
 <210> 11
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Artificial
 10 <220>
 <223> QAt1g14880R
 <400> 11
 15 cgacttg gcc aaatgtgata 20
 <210> 12
 <211> 21
 20 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 <223> QAt4g14365F
 25 <400> 12
 tggtttctg aggcattgtaa a 21
 30 <210> 13
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Artificial
 35 <220>
 <223> QAtfg14365R
 <400> 13
 40 agtgcaggaa cattggtgt 20
 <210> 14
 <211> 20
 <212> ADN
 45 <213> Artificial
 <220>
 <223> QACD6F
 50 <400> 14
 tggacagttc tggagcagat 20
 <210> 15
 55 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 60 <223> QACD6R
 <400> 15
 caactcctcc gctgtgag 18
 65 <210> 16

<211> 23
 <212> ADN
 <213> Artificial
 5 <220>
 <223> QPR-5F
 <400> 16
 10 ggcaaatatc tccagtattc aca 23
 <210> 17
 <211> 22
 <212> ADN
 15 <213> Artificial
 <220>
 <223> QPR-5R
 20 <400> 17
 ggtagggcaa ttgttcctta ga 22
 <210> 18
 25 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 30 <223> QPR-2F
 <400> 18
 aaggagctta gcctcaccac 20
 35 <210> 19
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Artificial
 40 <220>
 <223> QPR-2R
 <400> 19
 45 gagggaagca agaatggaac 20
 <210> 20
 <211> 20
 50 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 <223> QPR-1F
 55 <400> 20
 gaacacgtgc aatggagttt 20
 60 <210> 21
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Artificial
 65 <220>
 <223> QPR-1R

<400> 21
 5 ggtccacca ttgtacacc t 21
 <210> 22
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Artificial
 10 <220>
 <223> QACT2F
 <400> 22
 15 aatcacagca cttgcacca 19
 <210> 23
 <211> 20
 20 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 <223> QACT2R
 25 <400> 23
 gagggaagca agaatggaac 20
 30 <210> 24
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Artificial
 35 <220>
 <223> Lsat_dmr6_fw1
 <400> 24
 40 gatcaaggtc aacacatgg 19
 <210> 25
 <211> 20
 <212> ADN
 45 <213> Artificial
 <220>
 <223> Lsat_dmr6_fw2
 50 <400> 25
 tcaaccatta cccagtgtgc 20
 <210> 26
 55 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 60 <223> dmr6_deg_fw1B
 <400> 26
 ttccaggtta ttaaycaygg 20
 65 <210> 27

<211> 20
 <212> ADN
 <213> Artificial
 5 <220>
 <223> dmr6_deg_fw2B
 <400> 27
 10 cataaaytgga grgaytayct 20
 <210> 28
 <211> 20
 <212> ADN
 15 <213> Artificial
 <220>
 <223> dmr6_deg_fw3b
 20 <400> 28
 garcaaggrc arcayatggc 20
 <210> 29
 25 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 30 <223> dmr6_deg_fw4
 <400> 29
 aatcctcctt chttcaagga 20
 35 <210> 30
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Artificial
 40 <220>
 <223> dmr6_deg_rv3B
 <400> 30
 45 agtgcattkg ggtchgrtg 20
 <210> 31
 <211> 20
 50 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 <223> dmr6_deg_rv4
 55 <400> 31
 aatgttratg acaaargcat 20
 60 <210> 32
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Artificial
 65 <220>
 <223> dmr6_deg_rv5

<400> 32
 5 gccatrtgyt gyccttgytc 20
 <210> 33
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Artificial
 10 <220>
 <223> Cuc_dmr6_rv1
 <400> 33
 15 tccggacatt gaaactgtg 20
 <210> 34
 <211> 20
 20 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Cuc_dmr6_rv2
 25 <400> 34
 tcaaagaact gcttgccaac 20
 30 <210> 35
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Artificial
 35 <220>
 <223> Cuc_dmr6_fw1
 <400> 35
 40 cgcactcacc attctccttc 20
 <210> 36
 <211> 19
 <212> ADN
 45 <213> Artificial
 <220>
 <223> Cuc_dmr6_fw2
 50 <400> 36
 ggcctccaag tctctcaaag 19
 <210> 37
 55 <211> 25
 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 60 <223> IND_MOP9 Fw
 <400> 37
 tttgggaaca gaaaaagttg gaggt 25
 65 <210> 38

<211> 25
 <212> ADN
 <213> Artificial
 5 <220>
 <223> IND_MOP9 Inverso
 <400> 38
 10 catattcaaa agggaaaatc ccaga 25
 <210> 39
 <211> 25
 <212> ADN
 15 <213> Artificial
 <220>
 <223> IND_K16H17 Directo
 20 <400> 39
 tgggggtgtg gtttattctg ttgac 25
 <210> 40
 25 <211> 26
 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 30 <223> IND_K16H17 Inverso
 <400> 40
 tggccaatag tagttgatac gcaaga 26
 35 <210> 41
 <211> 25
 <212> ADN
 <213> Artificial
 40 <220>
 <223> IND_T4C12 Directo
 <400> 41
 45 tctcgggtaa gacacaagtc gagat 25
 <210> 42
 <211> 25
 50 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 <223> IND_T4C12 Inverso
 55 <400> 42
 tattccaact tgcgacgtag agcat 25
 60 <210> 43
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Artificial
 65 <220>
 <223> IND_T11H3 Directo

<400> 43
 5 ccaattgggt tattacttc gatt 24
 <210> 44
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Artificial
 10 <220>
 <223> IND_T11H3 Inverso
 <400> 44
 15 cggttttaa caacatatt tcca 24
 <210> 45
 <211> 18
 20 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 <223> IND_F21J6 cebador directo
 25 <400> 45
 aacacatcac caagatga 18
 30 <210> 46
 <211> 25
 <212> ADN
 <213> Artificial
 35 <220>
 <223> IND_F21J6 cebador inverso
 <400> 46
 40 cctctgcccc aagaaatatt gagat 25
 <210> 47
 <211> 24
 <212> ADN
 45 <213> Artificial
 <220>
 <223> M450 directo
 50 <400> 47
 agctttgtat ggtagtgcca atga 24
 <210> 48
 55 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 60 <223> M450 Inverso
 <400> 48
 gcggtatacg ggggttaaaa tcta 24
 65 <210> 49

<211> 22
 <212> ADN
 <213> Artificial
 5 <220>
 <223> M490 Directo
 <400> 49
 10 atggccaacc actctttgtt ac 22
 <210> 50
 <211> 22
 <212> ADN
 15 <213> Artificial
 <220>
 <223> M490 Inverso
 20 <400> 50
 acaagcaaga agaacagcga ag 22
 <210> 51
 25 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 30 <223> M525 Directo
 <400> 51
 gaaatttgggt tgttggcatt tatc 24
 35 <210> 52
 <211> 25
 <212> ADN
 <213> Artificial
 40 <220>
 <223> M525 Inverso
 <400> 52
 45 tcaagatctt catattctca ttcca 25
 <210> 53
 <211> 25
 50 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 <223> M545 Directo
 55 <400> 53
 cagctgaagt atgtttcatc ccttt 25
 60 <210> 54
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Artificial
 65 <220>
 <223> M545 Inverso

ES 2 560 677 T3

<400> 54
 5 cttgcaattg ttgggactag gtaa 24
 <210> 55
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Artificial
 10 <220>
 <223> M555 Directo
 <400> 55
 15 tcactaacca gtgaaaaagg ttgc 24
 <210> 56
 <211> 24
 20 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 <223> M555 Inverso
 25 <400> 56
 tatacagcga atagcaaagc caag 24
 30 <210> 57
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Artificial
 35 <220>
 <223> M470 Directo
 <400> 57
 40 ccgcgagtgt aatatatctc tcct 24
 <210> 58
 <211> 24
 <212> ADN
 45 <213> Artificial
 <220>
 <223> M470 Inverso
 50 <400> 58
 cagtttaacg catgaagtgc tagt 24
 <210> 59
 55 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 60 <223> M590 Directo
 <400> 59
 gcatcattg tacgtactg agtc 24
 65 <210> 60

ES 2 560 677 T3

<211> 24
 <212> ADN
 <213> Artificial

5 <220>
 <223> M590 Inverso

 <400> 60

10 tagtggatac tctgtccctg aggt 24

 <210> 61
 <211> 1026
 <212> ADN
 15 <213> Arabidopsis thaliana

 <400> 61

atggcggcaa agctgatatc caccggtttc cgtcatacta ctttgccgga aaactatgtc	60
cggccaatct ccgaccgtcc acgtctctct gaagtctctc aactcgaaga tttccctctc	120
atcgatctct cttccactga tcgatctttt ctcataccaac aaatccacca agcttgtgcc	180
cgattcggat tttttcaggt cataaatcac ggagttaaca aacaaataat agatgagatg	240
gtgagtgttg cgcgtgagtt ctttagcatg tctatggaag aaaaaatgaa gctatatattca	300
gacgatccaa cgaagacaac aagattatcg acgagcttca atgtgaagaa agaagaagtc	360
aacaattgga gagactatct aagactccat tgttatccta tccacaagta tgtcaatgag	420
tggccgtcaa accctccttc tttcaaggaa atagtaagta aatacagtag agaagtaaga	480
gaagtgggat ttaaaataga ggaattaata tcagagagct taggtttaga aaaagattac	540
atgaagaaag tgcttggtga acaaggtaa cacatggcag tcaactatta tcctccatgt	600
cctgaacctg agctcactta cggtttacct gctcataccg acccaaacgc cctaaccatt	660
cttcttcaag acaactactgt ttgcggtctc cagatcttga tcgacggtca gtggttcgcc	720
gttaatccac atcctgatgc ttttgtcatc aacataggtg accagttaca ggcattaagt	780
aatggagtat acaaaagtgt ttggcatcgc gctgtaacaa acacagaaaa tccgagacta	840
tcggtcgcac cgtttctgtg ccagctgac tgtgctgtca tgagcccggc caagcccttg	900
tgggaagctg aggacgatga aacgaaacca gtctacaaag atttactta tgcagagtat	960
tacaagaagt tttggagtag gaatctggac caagaacatt gcctcgagaa ttttctaaac	1020
aactaa	1026

20 <210> 62
 <211> 341
 <212> PRT
 <213> Arabidopsis thaliana

25 <400> 62

ES 2 560 677 T3

Met	Ala	Ala	Lys	Leu	Ile	Ser	Thr	Gly	Phe	Arg	His	Thr	Thr	Leu	Pro	1	5	10	15
Glu	Asn	Tyr	Val	Arg	Pro	Ile	Ser	Asp	Arg	Pro	Arg	Leu	Ser	Glu	Val	20	25	30	
Ser	Gln	Leu	Glu	Asp	Phe	Pro	Leu	Ile	Asp	Leu	Ser	Ser	Thr	Asp	Arg	35	40	45	
Ser	Phe	Leu	Ile	Gln	Gln	Ile	His	Gln	Ala	Cys	Ala	Arg	Phe	Gly	Phe	50	55	60	
Phe	Gln	Val	Ile	Asn	His	Gly	Val	Asn	Lys	Gln	Ile	Ile	Asp	Glu	Met	65	70	75	80
Val	Ser	Val	Ala	Arg	Glu	Phe	Phe	Ser	Met	Ser	Met	Glu	Glu	Lys	Met	85	90	95	
Lys	Leu	Tyr	Ser	Asp	Asp	Pro	Thr	Lys	Thr	Thr	Arg	Leu	Ser	Thr	Ser	100	105	110	
Phe	Asn	Val	Lys	Lys	Glu	Glu	Val	Asn	Asn	Trp	Arg	Asp	Tyr	Leu	Arg	115	120	125	
Leu	His	Cys	Tyr	Pro	Ile	His	Lys	Tyr	Val	Asn	Glu	Trp	Pro	Ser	Asn	130	135	140	
Pro	Pro	Ser	Phe	Lys	Glu	Ile	Val	Ser	Lys	Tyr	Ser	Arg	Glu	Val	Arg	145	150	155	160
Glu	Val	Gly	Phe	Lys	Ile	Glu	Glu	Leu	Ile	Ser	Glu	Ser	Leu	Gly	Leu	165	170	175	
Glu	Lys	Asp	Tyr	Met	Lys	Lys	Val	Leu	Gly	Glu	Gln	Gly	Gln	His	Met	180	185	190	
Ala	Val	Asn	Tyr	Tyr	Pro	Pro	Cys	Pro	Glu	Pro	Glu	Leu	Thr	Tyr	Gly	195	200	205	
Leu	Pro	Ala	His	Thr	Asp	Pro	Asn	Ala	Leu	Thr	Ile	Leu	Leu	Gln	Asp	210	215	220	
Thr	Thr	Val	Cys	Gly	Leu	Gln	Ile	Leu	Ile	Asp	Gly	Gln	Trp	Phe	Ala	225	230	235	240

ES 2 560 677 T3

Val Asn Pro His Pro Asp Ala Phe Val Ile Asn Ile Gly Asp Gln Leu
245 250 255

Gln Ala Leu Ser Asn Gly Val Tyr Lys Ser Val Trp His Arg Ala Val
260 265 270

Thr Asn Thr Glu Asn Pro Arg Leu Ser Val Ala Ser Phe Leu Cys Pro
275 280 285

Ala Asp Cys Ala Val Met Ser Pro Ala Lys Pro Leu Trp Glu Ala Glu
290 295 300

Asp Asp Glu Thr Lys Pro Val Tyr Lys Asp Phe Thr Tyr Ala Glu Tyr
305 310 315 320

Tyr Lys Lys Phe Trp Ser Arg Asn Leu Asp Gln Glu His Cys Leu Glu
325 330 335

Asn Phe Leu Asn Asn
340

<210> 63
<211> 242
<212> PRT
<213> Aquilegia sp.

<400> 63

Met Glu Ser Ser Asn Val Leu Leu Thr Gly Thr Arg His Ser Asn Leu
1 5 10 15

Pro Glu Asn Tyr Val Arg Ser Val Ser Asp Arg Pro Arg Leu Ser Glu
20 25 30

Val Lys Asp Cys Glu Asn Val Pro Val Ile Asp Leu Ser Val Ala Asp
35 40 45

Glu Ser Leu Leu Ala Gln Gln Ile Gly Asn Ala Cys Lys Ser His Gly
50 55 60

Phe Phe Gln Val Ile Asn His Gly Val Asn Ser Glu Leu Val Glu Lys
65 70 75 80

Met Met Glu Ile Ser His Glu Phe Phe His Leu Pro Leu Asp Val Lys
85 90 95

Met Gln Phe Tyr Ser Asp Asp Pro Thr Lys Thr Met Arg Leu Ser Thr
100 105 110

ES 2 560 677 T3

Ser Phe Asn Leu Lys Lys Glu Ser Val His Asn Trp Arg Asp Tyr Leu
115 120 125

Arg Leu His Cys His Pro Ile Glu Lys Tyr Val Gln Glu Trp Pro Ser
130 135 140

Val Pro Ser Thr Phe Lys Asp Val Val Ala Thr Tyr Cys Lys Glu Val
145 150 155 160

Arg Lys Leu Gly Leu Arg Leu Leu Gly Ser Ile Ser Leu Ser Leu Gly
165 170 175

Leu Glu Glu Asp Tyr Ile Glu Lys Val Leu Gly Asp Gln Gly Gln His
180 185 190

Met Ala Val Asn Tyr Tyr Pro Pro Cys Pro Glu Pro Glu Leu Thr Tyr
195 200 205

Gly Leu Pro Arg His Thr Asp Pro Asn Thr Ile Thr Ile Leu Leu Gln
210 215 220

Gly Gln Glu Val Ala Gly Leu Gln Val Leu His Asn Gly Lys Trp Val
225 230 235 240

Ala Val

<210> 64

<211> 337

<212> PRT

<213> Citrus sinensis

<400> 64

Met Asp Thr Lys Val Leu Ser Ser Gly Ile Arg Tyr Thr Asn Leu Pro
1 5 10 15

Glu Gly Tyr Val Arg Pro Glu Ser Glu Arg Pro Asn Leu Ser Glu Val
20 25 30

Ser Glu Cys Lys Asn Val Pro Val Ile Asp Leu Ala Cys Asp Asp Arg
35 40 45

Ser Leu Ile Val Gln Gln Val Ala Asp Ala Cys Lys Asn Tyr Gly Phe
50 55 60

Phe Gln Ala Ile Asn His Glu Val Pro Leu Glu Thr Val Glu Arg Val
65 70 75 80

Leu Glu Val Ala Lys Glu Phe Phe Asn Leu Pro Val Glu Glu Lys Leu
85 90 95

5

10

ES 2 560 677 T3

Lys Leu Tyr Ser Asp Asp Pro Ser Lys Thr Met Arg Leu Ser Thr Ser
 100 105 110
 Phe Asn Val Asn Lys Glu Lys Val His Asn Trp Arg Asp Tyr Leu Arg
 115 120 125
 Leu His Cys Tyr Pro Leu Asp Lys Tyr Val Pro Glu Trp Pro Ser Asn
 130 135 140
 Pro Ser Thr Phe Lys Glu Phe Val Ser Thr Tyr Cys Ser Glu Val Arg
 145 150 155 160
 Gly Leu Gly Tyr Arg Val Leu Glu Leu Ile Ser Glu Ser Leu Gly Leu
 165 170 175
 Glu Lys Asp Tyr Ile Lys Lys Val Leu Gly Glu Gln Gly Gln His Met
 180 185 190
 Ala Val Asn Phe Tyr Pro Pro Cys Pro Glu Pro Glu Leu Thr Tyr Gly
 195 200 205
 Leu Pro Gly His Thr Asp Pro Asn Ala Leu Thr Ile Leu Leu Gln Asp
 210 215 220
 Leu Glu Val Ala Gly Leu Gln Val Leu Lys Asp Asp Lys Trp Val Ala
 225 230 235 240
 Val Asn Pro Leu Pro Asn Ala Phe Val Ile Asn Ile Gly Asp Gln Leu
 245 250 255
 Gln Ala Leu Ser Asn Gly Arg Tyr Lys Ser Val Trp His Arg Ala Ile
 260 265 270
 Val Asn Ala Glu Lys Ala Arg Met Ser Val Ala Ser Phe Leu Cys Pro
 275 280 285
 Asn Asn Asp Ala Met Ile Ser Pro Pro Lys Ala Leu Thr Glu Asp Gly
 290 295 300
 Ser Gly Ala Val Tyr Arg Asp Phe Thr Tyr Ala Glu Tyr Tyr Ser Lys
 305 310 315 320
 Phe Trp Ser Arg Asn Leu Asp Gln Glu His Cys Leu Glu Leu Phe Lys
 325 330 335

Asn

<210> 65

<211> 337

5 <212> PRT

<213> Coffea canephora

<400> 65

ES 2 560 677 T3

Met	Glu	Thr	Lys	Val	Ile	Ser	Ser	Gly	Ile	Lys	Tyr	Thr	Ser	Leu	Pro	1	5	10	15
Glu	Ser	Tyr	Val	Arg	Pro	Glu	Ser	Glu	Arg	Pro	Arg	Leu	Ser	Glu	Val	20	25	30	
Ser	Asp	Cys	Gln	Asn	Val	Pro	Val	Val	Asp	Leu	Gly	Phe	Gly	Asp	Arg	35	40	45	
Asn	Leu	Met	Val	Arg	Gln	Ile	Gly	Asp	Ala	Cys	Arg	Asp	Tyr	Gly	Phe	50	55	60	
Phe	Gln	Val	Ile	Asn	His	Gly	Val	Ser	Lys	Asp	Ala	Val	Asp	Lys	Met	65	70	75	80
Leu	Glu	Thr	Ala	Thr	Glu	Phe	Phe	Ser	Leu	Pro	Val	Glu	Glu	Lys	Leu	85	90	95	
Lys	Leu	Tyr	Ser	Asp	Asp	Pro	Ser	Lys	Thr	Thr	Arg	Leu	Ser	Thr	Ser	100	105	110	
Phe	Asn	Val	Lys	Lys	Glu	Thr	Val	His	Asn	Trp	Arg	Asp	Tyr	Leu	Arg	115	120	125	
Leu	His	Cys	Tyr	Pro	Leu	Glu	Lys	Tyr	Val	Pro	Glu	Trp	Pro	Ser	Asn	130	135	140	
Pro	Pro	Ser	Phe	Lys	Glu	Met	Val	Ser	Asn	Tyr	Cys	Val	Gln	Ile	Arg	145	150	155	160
Glu	Leu	Gly	Leu	Arg	Leu	Glu	Glu	Ala	Ile	Ala	Glu	Ser	Leu	Gly	Leu	165	170	175	
Asp	Lys	Glu	Cys	Ile	Lys	Lys	Val	Leu	Gly	Asp	Gln	Gly	Gln	His	Met	180	185	190	
Ala	Val	Asn	Tyr	Tyr	Pro	Pro	Cys	Pro	Gln	Pro	Asp	Leu	Thr	Tyr	Gly	195	200	205	
Leu	Pro	Gly	His	Thr	Asp	Pro	Asn	Ala	Leu	Thr	Ile	Leu	Leu	Gln	Asp	210	215	220	
Leu	Asn	Val	Ala	Gly	Leu	Gln	Val	Leu	Arg	Asp	Gly	Arg	Trp	Leu	Ala				

ES 2 560 677 T3

[illegible]

Asn

<210> 66
<211> 1029
<212> ADN
<213> Cucumis sativus

<400> 66

atgagcagtg	tgatggagat	ccaacttttg	tgttcagggg	gacgtcacga	gaagttgccca	60
gagaagtatg	aacggcctga	atcggatagg	ccgcggctgt	cggaggtgtg	ttgttgggac	120
aaggttccaa	taatcgactt	gggatgcgag	gagagagaga	tgattgtgaa	gcaagtggag	180
gaggcctgca	agtcttacgg	ctttttccag	gttataaatc	atgggtgtgag	gaaggaattg	240
gtggagaaaag	tgatagaagt	tggcaagcag	ttctttgagc	tgccgatgga	ggagaagttg	300
aaatttttatt	cagacgaccc	ttccaagacc	gtcagactct	ccacaagttt	caatgtccgg	360
aaagagcaat	ttcgcaactg	gagggattat	ctcagactcc	attgctatcc	tctctccaac	420
tacaccccc	attggccctc	taacccacca	tccttcaggg	aaatagtgag	tagttattgc	480
aatgaagtac	gaaaagttgg	gtacagaata	gaggagctaa	tatcgagag	cttggggctg	540
gagaaggaat	acataaggaa	gaagttgggt	gaacaaggtc	agcacatggc	tataaattat	600
tatccgccat	gtccccaacc	agaactcacc	tacgggctcc	ctggccatac	ggatcccaac	660
gcactcacca	ttctccttca	ggatctccat	gtcgccggcc	tccaagtcct	caaagatgga	720
aagtggctag	cgggtcaaccc	ccacccaact	gcctttgtaa	tcaatatagg	cgaccaattg	780
caggcattga	gcaatggggg	gtacaagagc	gtttggcacc	gagcggtggt	caatgttgat	840
aagcccaggc	tgtcggtcgc	ttctttttctc	tgcccttg	atgacgccct	cattactcct	900
gcaccgctcc	tctcccagcc	ttcccccaatt	tacagacctt	tcacctacgc	ccagtactac	960
aatacttttt	ggagcagaaa	cttggatcaa	caacattgct	tggaactatt	taaaaaccac	1020
cctccttaa						1029

ES 2 560 677 T3

<210> 67

<211> 342

<212> PRT

5 <213> Cucumis sativus

<400> 67

Met Ser Ser Val Met Glu Ile Gln Leu Leu Cys Ser Gly Gly Arg His
1 5 10 15

Glu Lys Leu Pro Glu Lys Tyr Glu Arg Pro Glu Ser Asp Arg Pro Arg
20 25 30

Leu Ser Glu Val Cys Cys Trp Asp Lys Val Pro Ile Ile Asp Leu Gly
35 40 45

Cys Glu Glu Arg Glu Met Ile Val Lys Gln Val Glu Glu Ala Cys Lys
50 55 60

Ser Tyr Gly Phe Phe Gln Val Ile Asn His Gly Val Arg Lys Glu Leu
65 70 75 80

Val Glu Lys Val Ile Glu Val Gly Lys Gln Phe Phe Glu Leu Pro Met
85 90 95

Glu Glu Lys Leu Lys Phe Tyr Ser Asp Asp Pro Ser Lys Thr Val Arg
100 105 110

Leu Ser Thr Ser Phe Asn Val Arg Lys Glu Gln Phe Arg Asn Trp Arg
115 120 125

Asp Tyr Leu Arg Leu His Cys Tyr Pro Leu Ser Asn Tyr Thr Pro His
130 135 140

Trp Pro Ser Asn Pro Pro Ser Phe Arg Glu Ile Val Ser Ser Tyr Cys
145 150 155 160

Asn Glu Val Arg Lys Val Gly Tyr Arg Ile Glu Glu Leu Ile Ser Glu
165 170 175

Ser Leu Gly Leu Glu Lys Glu Tyr Ile Arg Lys Lys Leu Gly Glu Gln
180 185 190

Gly Gln His Met Ala Ile Asn Tyr Tyr Pro Pro Cys Pro Gln Pro Glu

10

ES 2 560 677 T3

195

200

205

Leu Thr Tyr Gly Leu Pro Gly His Thr Asp Pro Asn Ala Leu Thr Ile
210 215 220

Leu Leu Gln Asp Leu His Val Ala Gly Leu Gln Val Leu Lys Asp Gly
225 230 235 240

Lys Trp Leu Ala Val Asn Pro His Pro Asn Ala Phe Val Ile Asn Ile
245 250 255

Gly Asp Gln Leu Gln Ala Leu Ser Asn Gly Val Tyr Lys Ser Val Trp
260 265 270

His Arg Ala Val Val Asn Val Asp Lys Pro Arg Leu Ser Val Ala Ser
275 280 285

Phe Leu Cys Pro Cys Asp Asp Ala Leu Ile Thr Pro Ala Pro Leu Leu
290 295 300

Ser Gln Pro Ser Pro Ile Tyr Arg Pro Phe Thr Tyr Ala Gln Tyr Tyr
305 310 315 320

Asn Thr Phe Trp Ser Arg Asn Leu Asp Gln Gln His Cys Leu Glu Leu
325 330 335

Phe Lys Asn His Pro Pro
340

<210> 68

<211> 337

<212> PRT

<213> Gossypium hirsutum

<400> 68

Met Asp Thr Lys Val Leu Ser Ser Gly Ile His Tyr Ser Ser Leu Pro
1 5 10 15

Glu Ser Tyr Val Arg Pro Glu Ser Glu Arg Pro Arg Leu Ser Glu Val
20 25 30

Ser Gln Cys Asp Asn Val Pro Val Ile Asp Leu Gly Cys Glu Asp Arg
35 40 45

Ser His Ile Val Gln Gln Ile Ala Leu Ala Cys Ile Asn Tyr Gly Phe
50 55 60

Phe Gln Val Ile Asn His Gly Val Ser Lys Glu Ala Val Glu Arg Met
65 70 75 80

ES 2 560 677 T3

Leu Gln Val Ala His Asp Phe Phe Gly Leu Pro Val Glu Glu Lys Met
 85 90 95
 Lys Leu Tyr Ser Asp Asp Pro Ser Lys Thr Met Arg Leu Ser Thr Ser
 100 105 110
 Phe Asn Val Lys Lys Glu Lys Val His Asn Trp Arg Asp Tyr Leu Arg
 115 120 125
 Leu His Cys Tyr Pro Leu His Lys Tyr Val Pro Glu Trp Pro Ser Asn
 130 135 140
 Pro Pro Ser Phe Lys Gln Ile Val Ser Asp Tyr Cys Val Gln Val Arg
 145 150 155 160
 Glu Leu Gly Tyr Arg Leu Gln Glu Leu Ile Ser Glu Ser Leu Gly Leu
 165 170 175
 Glu Lys Asp Tyr Ile Lys Lys Val Leu Gly Glu Gln Gly Gln His Met
 180 185 190
 Ala Val Asn Tyr Tyr Pro Pro Cys Pro Glu Pro Glu Leu Thr Tyr Gly
 195 200 205
 Leu Pro Gly His Thr Asp Pro Asn Ala Leu Thr Ile Leu Leu Gln Asp
 210 215 220
 Leu Gln Val Ala Gly Leu Gln Val Leu Lys Asp Gly Lys Trp Leu Ala
 225 230 235 240
 Val Asn Pro Gln Thr Asn Ala Phe Val Ile Asn Ile Gly Asp Gln Leu
 245 250 255
 Gln Ala Leu Ser Asn Gly Thr Tyr Lys Ser Val Trp His Arg Ala Ile
 260 265 270
 Val Asn Thr Asp Lys Pro Arg Met Ser Val Ala Ser Phe Leu Cys Pro
 275 280 285
 Tyr Asp His Ala Leu Ile Ser Pro Ala Lys Pro Leu Thr Gln His Gly
 290 295 300
 Cys Gly Ala Val Tyr Arg Asp Phe Thr Tyr Ala Glu Tyr Tyr Ser Lys
 305 310 315 320
 Phe Trp Gly Arg Asn Leu Asp Gln Glu His Cys Leu Glu Leu Phe Lys
 325 330 335
 Asn

<210> 69
 <211> 1014
 <212> ADN
 <213> Lactuca sativa

<400> 69

ES 2 560 677 T3

```

atggccgcaa aagtcattct cagtggattc cgttatacta ctctaccgga gagctacgtc    60
cgtccgggta acgacagacc taacctatct caagtttccg attgcaacga cgttcctgtt    120
attgacatcg gttgtgggtg tagacaactc ataagccaac aaattggcga tgcttgtaga    180
agatacgggt ttttccaggt gattaatcat ggtgtgcctg atgaaatagt ggagaaaatg    240
caacaagtag gtagggaggt tttcctgttg cctgtggaag agaagatgaa gctttactca    300
gaggatccat cgaagacgat gaggctatcc accagcttta acgtccaaaa agaacaaatt    360
cataactggc gagattatct ccgccttcac tgttatcttc tggatcaata cagtcctgaa    420
tggccttcaa atccttctta tttcaaggaa tatgttggtg attattgtac agcagtgcga    480
aatttaggaa tgagaatatt agaatcaata tcagaaagtt taggggttaca aaaagaagaa    540
ataaaaacta tattaggcga tcaaggtcaa cacatggcca tcaaccatta cccagtgtgc    600
cctgagcccg agctaaccta cgggctaccc gggcacacag accccaatgc tctcaccatc    660
cttctacagg acacactggt ctctggtctt caggttctca aagatggcaa atggttagcc    720
gttaaaccac accctaatgc gtttgtaatt aacattgggtg atcagttaga ggcggtgagt    780
aatggtgaat ataaaagtgt atggcatcga gctgtgggtg actcagacaa cccgcgaatg    840
tctatagctt cgtttttgtg tccttgtaat gacaccgtta ttagggctcc taaagaaata    900
ataaaggaag gatcgaaacc tgttttcaaa gaatttactt atgcagaata ctacgcgaag    960
ttttggacaa gaaaccttga tcaagaacat tgcttagaat tcttcaagaa ctag    1014

```

<210> 70

<211> 337

5 <212> PRT

<213> Lactuca sativa

<400> 70

```

Met Ala Ala Lys Val Ile Ser Ser Gly Phe Arg Tyr Thr Thr Leu Pro
1           5           10           15

```

```

Glu Ser Tyr Val Arg Pro Val Asn Asp Arg Pro Asn Leu Ser Gln Val
20           25           30

```

```

Ser Asp Cys Asn Asp Val Pro Val Ile Asp Ile Gly Cys Gly Asp Arg
35           40           45

```

10 Gln Leu Ile Ser Gln Gln Ile Gly Asp Ala Cys Arg Arg Tyr Gly Phe

ES 2 560 677 T3

50	55	60
Phe Gln Val Ile Asn His Gly Val Pro Asp Glu Ile Val Glu Lys Met 65 70 75 80		
Gln Gln Val Gly Arg Glu Phe Phe Leu Leu Pro Val Glu Glu Lys Met 85 90 95		
Lys Leu Tyr Ser Glu Asp Pro Ser Lys Thr Met Arg Leu Ser Thr Ser 100 105 110		
Phe Asn Val Gln Lys Glu Gln Ile His Asn Trp Arg Asp Tyr Leu Arg 115 120 125		
Leu His Cys Tyr Pro Leu Asp Gln Tyr Ser Pro Glu Trp Pro Ser Asn 130 135 140		
Pro Ser Tyr Phe Lys Glu Tyr Val Gly Asn Tyr Cys Thr Ala Val Arg 145 150 155 160		
Asn Leu Gly Met Arg Ile Leu Glu Ser Ile Ser Glu Ser Leu Gly Leu 165 170 175		
Gln Lys Glu Glu Ile Lys Thr Ile Leu Gly Asp Gln Gly Gln His Met 180 185 190		
Ala Ile Asn His Tyr Pro Val Cys Pro Glu Pro Glu Leu Thr Tyr Gly 195 200 205		
Leu Pro Gly His Thr Asp Pro Asn Ala Leu Thr Ile Leu Leu Gln Asp 210 215 220		
Thr Leu Val Ser Gly Leu Gln Val Leu Lys Asp Gly Lys Trp Leu Ala 225 230 235 240		
Val Lys Pro His Pro Asn Ala Phe Val Ile Asn Ile Gly Asp Gln Leu 245 250 255		
Glu Ala Val Ser Asn Gly Glu Tyr Lys Ser Val Trp His Arg Ala Val 260 265 270		
Val Asn Ser Asp Asn Pro Arg Met Ser Ile Ala Ser Phe Leu Cys Pro 275 280 285		
Cys Asn Asp Thr Val Ile Arg Ala Pro Lys Glu Ile Ile Lys Glu Gly 290 295 300		
Ser Lys Pro Val Phe Lys Glu Phe Thr Tyr Ala Glu Tyr Tyr Ala Lys 305 310 315 320		
Phe Trp Thr Arg Asn Leu Asp Gln Glu His Cys Leu Glu Phe Phe Lys 325 330 335		

Asn

- 5 <210> 71
 <211> 338
 <212> PRT
 <213> Medicago truncatula

ES 2 560 677 T3

<400> 71

Met Asp Thr Lys Val Leu Ser Ser Gly Ile His Tyr Ser Lys Leu Pro
1 5 10 15

Glu Ser Tyr Ile Arg Pro Glu Ser Asp Arg Pro Cys Leu Ser Gln Val
20 25 30

Ser Glu Phe Glu Asn Val Pro Ile Ile Asp Leu Gly Ser His Asn Arg
35 40 45

Thr Gln Ile Val Gln Gln Ile Gly Glu Ala Cys Ser Ser Tyr Gly Phe
50 55 60

Phe Gln Val Val Asn His Gly Val Pro Leu Glu Glu Leu Lys Lys Thr
65 70 75 80

Ala Glu Val Ala Tyr Asp Phe Phe Lys Leu Pro Val Glu Glu Lys Met
85 90 95

Lys Leu Tyr Ser Asp Asp Pro Thr Lys Thr Met Arg Leu Ser Thr Ser
100 105 110

Phe Asn Val Asn Lys Glu Glu Val His Asn Trp Arg Asp Tyr Leu Arg
115 120 125

Leu His Cys Tyr Pro Leu Asp Asn Tyr Val Pro Glu Trp Pro Ser Asn
130 135 140

Pro Pro Ser Phe Lys Glu Thr Val Ala Asn Tyr Cys Lys Glu Val Arg
145 150 155 160

Glu Leu Gly Leu Arg Ile Glu Glu Tyr Ile Ser Glu Ser Leu Gly Leu
165 170 175

Glu Lys Asp Tyr Leu Arg Asn Ala Leu Gly Glu Gln Gly Gln His Met
180 185 190

ES 2 560 677 T3

Ala Val Asn Tyr Tyr Pro Pro Cys Pro Gln Pro Glu Leu Thr Tyr Gly
195 200 205

Leu Pro Gly His Thr Asp Pro Asn Ala Leu Thr Ile Leu Leu Gln Asp
210 215 220

Leu His Val Ala Gly Leu Gln Val Leu Lys Asp Gly Lys Trp Leu Ala
225 230 235 240

Ile Asn Pro Ile Pro Asp Ala Phe Val Ile Asn Ile Gly Asp Gln Leu
245 250 255

Gln Ala Leu Ser Asn Gly Leu Tyr Lys Ser Val Trp His Arg Ala Ile
260 265 270

Val Asn Ala Glu Lys Pro Arg Leu Ser Val Ala Ser Phe Leu Cys Pro
275 280 285

Asp Asn Glu Ala Leu Ile Cys Pro Ala Lys Pro Leu Thr Glu Asp Gly
290 295 300

Ser Gly Ala Val Tyr Arg Gly Phe Thr Tyr Pro Glu Tyr Tyr Ser Lys
305 310 315 320

Phe Trp Ser Arg Asp Leu Glu Lys Glu His Cys Leu Glu Phe Phe Lys
325 330 335

Asn Asn

<210> 72

<211> 342

<212> PRT

<213> Oryza sativa

<400> 72

Met Ala Ala Glu Ala Glu Gln Gln His Gln Leu Leu Ser Thr Ala Val
1 5 10 15

His Asp Thr Met Pro Gly Lys Tyr Val Arg Pro Glu Ser Gln Arg Pro
20 25 30

Arg Leu Asp Leu Val Val Ser Asp Ala Arg Ile Pro Val Val Asp Leu
35 40 45

Ala Ser Pro Asp Arg Ala Ala Val Val Ser Ala Val Gly Asp Ala Cys
50 55 60

Arg Thr His Gly Phe Phe Gln Val Val Asn His Gly Ile Asp Ala Ala
65 70 75 80

5

10

ES 2 560 677 T3

Leu Ile Ala Ser Val Met Glu Val Gly Arg Glu Phe Phe Arg Leu Pro
 85 90 95
 Ala Glu Glu Lys Ala Lys Leu Tyr Ser Asp Asp Pro Ala Lys Lys Ile
 100 105 110
 Arg Leu Ser Thr Ser Phe Asn Val Arg Lys Glu Thr Val His Asn Trp
 115 120 125
 Arg Asp Tyr Leu Arg Leu His Cys Tyr Pro Leu His Gln Phe Val Pro
 130 135 140
 Asp Trp Pro Ser Asn Pro Pro Ser Phe Lys Glu Ile Ile Gly Thr Tyr
 145 150 155 160
 Cys Thr Glu Val Arg Glu Leu Gly Phe Arg Leu Tyr Glu Ala Ile Ser
 165 170 175
 Glu Ser Leu Gly Leu Glu Gly Gly Tyr Met Arg Glu Thr Leu Gly Glu
 180 185 190
 Gln Glu Gln His Met Ala Val Asn Tyr Tyr Pro Gln Cys Pro Glu Pro
 195 200 205
 Glu Leu Thr Tyr Gly Leu Pro Ala His Thr Asp Pro Asn Ala Leu Thr
 210 215 220
 Ile Leu Leu Met Asp Asp Gln Val Ala Gly Leu Gln Val Leu Asn Asp
 225 230 235 240
 Gly Lys Trp Ile Ala Val Asn Pro Gln Pro Gly Ala Leu Val Ile Asn
 245 250 255
 Ile Gly Asp Gln Leu Gln Ala Leu Ser Asn Gly Lys Tyr Arg Ser Val
 260 265 270
 Trp His Arg Ala Val Val Asn Ser Asp Arg Glu Arg Met Ser Val Ala
 275 280 285
 Ser Phe Leu Cys Pro Cys Asn Ser Val Glu Leu Gly Pro Ala Lys Lys
 290 295 300
 Leu Ile Thr Asp Asp Ser Pro Ala Val Tyr Arg Asn Tyr Thr Tyr Asp
 305 310 315 320
 Glu Tyr Tyr Lys Lys Phe Trp Ser Arg Asn Leu Asp Gln Glu His Cys
 325 330 335
 Leu Glu Leu Phe Arg Thr
 340

5 <210> 73
 <211> 342
 <212> PRT
 <213> Oryza sativa

10 <400> 73

ES 2 560 677 T3

Met	Ala	Asp	Gln	Leu	Ile	Ser	Thr	Ala	Asp	His	Asp	Thr	Leu	Pro	Gly	1	5	10	15
Asn	Tyr	Val	Arg	Pro	Glu	Ala	Gln	Arg	Pro	Arg	Leu	Ala	Asp	Val	Leu	20	25	30	
Ser	Asp	Ala	Ser	Ile	Pro	Val	Val	Asp	Leu	Ala	Asn	Pro	Asp	Arg	Ala	35	40	45	
Lys	Leu	Val	Ser	Gln	Val	Gly	Ala	Ala	Cys	Arg	Ser	His	Gly	Phe	Phe	50	55	60	
Gln	Val	Leu	Asn	His	Gly	Val	Pro	Val	Glu	Leu	Thr	Leu	Ser	Val	Leu	65	70	75	80
Ala	Val	Ala	His	Asp	Phe	Phe	Arg	Leu	Pro	Ala	Glu	Glu	Lys	Ala	Lys	85	90	95	
Leu	Tyr	Ser	Asp	Asp	Pro	Ala	Lys	Lys	Ile	Arg	Leu	Ser	Thr	Ser	Phe	100	105	110	
Asn	Val	Arg	Lys	Glu	Thr	Val	His	Asn	Trp	Arg	Asp	Tyr	Leu	Arg	Leu	115	120	125	
His	Cys	Tyr	Pro	Leu	His	Arg	Tyr	Leu	Pro	Asp	Trp	Pro	Ser	Asn	Pro	130	135	140	
Pro	Ser	Phe	Arg	Glu	Ile	Ile	Ser	Thr	Tyr	Cys	Lys	Glu	Val	Arg	Glu	145	150	155	160
Leu	Gly	Phe	Arg	Leu	Tyr	Gly	Ala	Ile	Ser	Glu	Ser	Leu	Gly	Leu	Glu	165	170	175	
Gln	Asp	Tyr	Ile	Lys	Lys	Val	Leu	Gly	Glu	Gln	Glu	Gln	His	Met	Ala	180	185	190	
Val	Asn	Phe	Tyr	Pro	Lys	Cys	Pro	Glu	Pro	Glu	Leu	Thr	Phe	Gly	Leu	195	200	205	
Pro	Ala	His	Thr	Asp	Pro	Asn	Ala	Leu	Thr	Ile	Leu	Leu	Met	Asp	Gln				

ES 2 560 677 T3

210

215

220

Gln Val Ala Gly Leu Gln Val Leu Lys Glu Gly Arg Trp Ile Ala Val
225 230 235 240

Asn Pro Gln Pro Asn Ala Leu Val Ile Asn Ile Gly Asp Gln Leu Gln
245 250 255

Ala Leu Ser Asn Gly Arg Tyr Lys Ser Val Trp His Arg Ala Val Val
260 265 270

Asn Ser Asp Lys Ala Arg Met Ser Val Ala Ser Phe Leu Cys Pro Cys
275 280 285

Asn Asp Val Leu Ile Gly Pro Ala Gln Lys Leu Ile Thr Asp Gly Ser
290 295 300

Pro Ala Val Tyr Arg Asn Tyr Thr Tyr Asp Glu Tyr Tyr Lys Lys Phe
305 310 315 320

Trp Ser Arg Asn Leu Asp Gln Glu His Cys Leu Glu Leu Phe Arg Thr
325 330 335

Thr Pro Thr Asp Thr Ser
340

<210> 74

<211> 340

<212> PRT

<213> Oryza sativa

<400> 74

Met Ala Thr Thr Gln Leu Leu Ser Thr Val Glu His Arg Glu Thr Leu
1 5 10 15

Pro Glu Gly Tyr Ala Arg Pro Glu Ser Asp Arg Pro Arg Leu Ala Glu
20 25 30

Val Ala Thr Asp Ser Asn Ile Pro Leu Ile Asp Leu Ala Ser Pro Asp
35 40 45

Lys Pro Arg Val Ile Ala Glu Ile Ala Gln Ala Cys Arg Thr Tyr Gly
50 55 60

Phe Phe Gln Val Thr Asn His Gly Ile Ala Glu Glu Leu Leu Glu Lys
65 70 75 80

Val Met Ala Val Ala Leu Glu Phe Phe Arg Leu Pro Pro Glu Glu Lys
85 90 95

5

10

ES 2 560 677 T3

Glu Lys Leu Tyr Ser Asp Glu Pro Ser Lys Lys Ile Arg Leu Ser Thr
100 105 110

Ser Phe Asn Val Arg Lys Glu Thr Val His Asn Trp Arg Asp Tyr Leu
115 120 125

Arg Leu His Cys His Pro Leu Glu Glu Phe Val Pro Glu Trp Pro Ser
130 135 140

Asn Pro Ala Gln Phe Lys Glu Ile Met Ser Thr Tyr Cys Arg Glu Val
145 150 155 160

Arg Gln Leu Gly Leu Arg Leu Leu Gly Ala Ile Ser Val Ser Leu Gly
165 170 175

Leu Glu Glu Asp Tyr Ile Glu Lys Val Leu Gly Glu Gln Glu Gln His
180 185 190

Met Ala Val Asn Tyr Tyr Pro Arg Cys Pro Glu Pro Asp Leu Thr Tyr
195 200 205

Gly Leu Pro Lys His Thr Asp Pro Asn Ala Leu Thr Ile Leu Leu Pro
210 215 220

Asp Pro His Val Ala Gly Leu Gln Val Leu Arg Asp Gly Asp Gln Trp
225 230 235 240

Ile Val Val Asn Pro Arg Pro Asn Ala Leu Val Val Asn Leu Gly Asp
245 250 255

Gln Ile Gln Ala Leu Ser Asn Asp Ala Tyr Lys Ser Val Trp His Arg
260 265 270

Ala Val Val Asn Pro Val Gln Glu Arg Met Ser Val Ala Ser Phe Met
275 280 285

Cys Pro Cys Asn Ser Ala Val Ile Ser Pro Ala Arg Lys Leu Val Ala
290 295 300

Asp Gly Asp Ala Pro Val Tyr Arg Ser Phe Thr Tyr Asp Glu Tyr Tyr
305 310 315 320

Lys Lys Phe Trp Ser Arg Asn Leu Asp Gln Glu His Cys Leu Glu Leu
325 330 335

Phe Lys Gly Gln
340

<210> 75

<211> 338

5 <212> PRT

<213> Populus trichocarpa

<400> 75

ES 2 560 677 T3

Met	Asp	Thr	Lys	Val	Leu	Ser	Ser	Gly	Ile	Gln	Tyr	Thr	Asn	Leu	Pro	1	5	10	15
Ala	Ser	Tyr	Val	Arg	Pro	Glu	Ser	Glu	Arg	Pro	Arg	Leu	Trp	Glu	Val	20	25	30	
Ser	Thr	Cys	Glu	Asn	Val	Pro	Val	Ile	Asp	Leu	Gly	Cys	Gln	Glu	Arg	35	40	45	
Asp	Gln	Ile	Val	Gln	Gln	Val	Gly	Asp	Ala	Cys	Lys	Asn	Tyr	Gly	Phe	50	55	60	
Phe	Gln	Val	Ile	Asn	His	Gly	Val	Ser	Leu	Glu	Ala	Val	Glu	Lys	Met	65	70	75	80
Leu	Gly	Val	Ala	His	Asp	Phe	Phe	Ser	Leu	Pro	Val	Glu	Glu	Lys	Leu	85	90	95	
Lys	Leu	Tyr	Ser	Asp	Asp	Pro	Ser	Lys	Thr	Met	Arg	Leu	Ser	Thr	Ser	100	105	110	
Phe	Asn	Val	Asn	Lys	Glu	Lys	Val	His	Asn	Trp	Arg	Asp	Tyr	Leu	Arg	115	120	125	
Leu	His	Cys	Tyr	Pro	Leu	Asp	Lys	Tyr	Ala	Pro	Glu	Trp	Pro	Ser	Lys	130	135	140	
Pro	Pro	Pro	Phe	Lys	Asp	Ile	Val	Ser	Ser	Tyr	Cys	Ile	Gln	Val	Arg	145	150	155	160
Glu	Leu	Gly	Phe	Arg	Ile	Gln	Glu	Leu	Ile	Ser	Glu	Ser	Leu	Gly	Leu	165	170	175	
Glu	Lys	Asp	His	Val	Lys	Asn	Val	Leu	Gly	Glu	Gln	Gly	Gln	His	Met	180	185	190	
Ala	Val	Asn	Phe	Tyr	Pro	Pro	Cys	Pro	Glu	Pro	Glu	Leu	Thr	Phe	Gly	195	200	205	
Leu	Pro	Gly	His	Thr	Asp	Pro	Asn	Ala	Leu	Thr	Ile	Leu	Leu	Gln	Asp	210	215	220	
Gln	Ser	Val	Ala	Gly	Leu	Gln	Val	Leu	Lys	Asp	Gly	Lys	Trp	Val	Ala	225	230	235	240

ES 2 560 677 T3

Val Asp Pro His Pro Asp Ala Phe Val Ile Asn Ile Gly Asp Gln Leu
245 250 255

Gln Ala Leu Ser Asn Gly Arg Tyr Lys Ser Val Trp His Arg Ala Ile
260 265 270

Thr Asn Thr Asp Lys Ala Arg Met Ser Val Ala Ser Phe Leu Cys Pro
275 280 285

Tyr Asp Asn Ala Leu Ile Thr Pro Pro Lys Ala Leu Thr Asp Asp Gly
290 295 300

Thr Gly Ala Val Tyr Arg Asp Phe Thr Tyr Ala Glu Tyr Tyr Lys Lys
305 310 315 320

Phe Trp Ser Arg Asp Leu Asp Gln Glu His Cys Leu Glu Leu Phe Lys
325 330 335

Asn Lys

<210> 76

<211> 338

<212> PRT

<213> Populus trichocarpa

<400> 76

Met Asp Thr Lys Val Ile Ser Ser Gly Val His Tyr Thr Asn Leu Pro
1 5 10 15

Ala Ser Tyr Val Arg Pro Glu Ser Glu Arg Pro Arg Leu Ser Glu Val
20 25 30

Ser Thr Cys Glu Asp Val Pro Val Ile Asp Leu Gly Cys Gln Asp Arg
35 40 45

Asn Gln Ile Val Gln Gln Val Gly Asp Ala Cys Glu His Tyr Gly Phe
50 55 60

Phe Gln Val Ile Asn His Gly Val Ser Leu Glu Ala Val Glu Lys Met
65 70 75 80

Leu Gly Val Ala His Asp Phe Phe Ser Leu Pro Val Glu Glu Lys Leu
85 90 95

Lys Leu Tyr Ser Asp Asp Pro Ser Lys Thr Met Arg Leu Ser Thr Ser
100 105 110

ES 2 560 677 T3

Phe Asn Val Asn Lys Glu Lys Val His Asn Trp Arg Asp Tyr Leu Arg
 115 120 125
 Leu His Cys Tyr Pro Leu Asp Lys Tyr Val Pro Glu Trp Pro Ser Asn
 130 135 140
 Pro Pro Pro Phe Lys Glu Ile Val Arg Ser Tyr Ser Ile Gln Val Arg
 145 150 155 160
 Glu Leu Gly Phe Arg Ile Gln Glu Leu Ile Ser Glu Ser Leu Gly Leu
 165 170 175
 Glu Lys Asp His Ile Lys Asn Val Leu Gly Glu Gln Gly Gln His Met
 180 185 190
 Ala Val Asn Phe Tyr Pro Pro Cys Pro Glu Pro Glu Leu Thr Tyr Gly
 195 200 205
 Leu Pro Ala His Thr Asp Pro Asn Ala Leu Thr Ile Leu Leu Gln Asp
 210 215 220
 Leu Ser Val Ala Gly Leu Gln Val Leu Leu Lys Asp Gly Lys Trp Val
 225 230 235 240
 Ala Val Asn Pro His Pro Asp Ala Phe Val Ile Asn Ile Gly Asp Gln
 245 250 255
 Leu Gln Ala Leu Ser Asn Gly Arg Tyr Lys Ser Val Trp His Arg Ala
 260 265 270
 Ile Thr Asn Thr Asp Lys Ala Arg Met Ser Val Ala Ser Phe Leu Cys
 275 280 285
 Pro Phe Asp Asn Ala Leu Ile Thr Pro Pro Lys Ala Leu Thr Asp Asp
 290 295 300
 Gly Thr Gly Ala Ile Tyr Arg Asp Phe Thr Tyr Ala Glu Tyr Tyr Lys
 305 310 315 320
 Lys Phe Trp Ser Arg Asn Leu Asp Gln Glu His Cys Leu Glu Leu Phe
 325 330 335

Lys Asn

<210> 77

<211> 337

<212> PRT

<213> Solanum lycopersicum

<400> 77

ES 2 560 677 T3

Met	Glu	Thr	Lys	Val	Ile	Ser	Ser	Gly	Ile	Asn	His	Ser	Thr	Leu	Pro	1	5	10	15
Gln	Ser	Tyr	Ile	Arg	Pro	Glu	Ser	Asp	Arg	Pro	Arg	Leu	Ser	Glu	Val	20	25	30	
Val	Asp	Cys	Glu	Asn	Val	Pro	Ile	Ile	Asp	Leu	Ser	Cys	Gly	Asp	Gln	35	40	45	
Ala	Gln	Ile	Ile	Arg	Gln	Ile	Gly	Glu	Ala	Cys	Gln	Thr	Tyr	Gly	Phe	50	55	60	
Phe	Gln	Val	Ile	Asn	His	Gly	Val	Pro	Lys	Glu	Val	Val	Glu	Lys	Met	65	70	75	80
Leu	Gly	Val	Ala	Gly	Glu	Phe	Phe	Asn	Leu	Pro	Val	Glu	Glu	Lys	Leu	85	90	95	
Lys	Leu	Tyr	Ser	Asp	Asp	Pro	Ser	Lys	Thr	Met	Arg	Leu	Ser	Thr	Ser	100	105	110	
Phe	Asn	Val	Lys	Lys	Glu	Thr	Val	His	Asn	Trp	Arg	Asp	Tyr	Leu	Arg	115	120	125	
Leu	His	Cys	Tyr	Pro	Leu	Glu	Lys	Tyr	Ala	Pro	Glu	Trp	Pro	Ser	Asn	130	135	140	
Pro	Ser	Ser	Phe	Arg	Glu	Ile	Val	Ser	Arg	Tyr	Cys	Arg	Glu	Ile	Arg	145	150	155	160
Gln	Leu	Gly	Phe	Arg	Leu	Glu	Glu	Ala	Ile	Ala	Glu	Ser	Leu	Gly	Leu	165	170	175	
Asp	Lys	Glu	Cys	Ile	Lys	Asp	Val	Leu	Gly	Glu	Gln	Gly	Gln	His	Met	180	185	190	
Ala	Ile	Asn	Tyr	Tyr	Pro	Pro	Cys	Pro	Gln	Pro	Glu	Leu	Thr	Tyr	Gly	195	200	205	
Leu	Pro	Ala	His	Thr	Asp	Pro	Asn	Ser	Leu	Thr	Ile	Leu	Leu	Gln	Asp	210	215	220	
Leu	Gln	Val	Ala	Gly	Leu	Gln	Val	Leu	Lys	Asp	Gly	Lys	Trp	Leu	Ala	225	230	235	240
Val	Lys	Pro	Gln	Pro	Asp	Ala	Phe	Val	Ile	Asn	Leu	Gly	Asp	Gln	Leu	245	250	255	

ES 2 560 677 T3

Gln Ala Val Ser Asn Gly Lys Tyr Arg Ser Val Trp His Arg Ala Ile
260 265 270

Val Asn Ser Asp Gln Ala Arg Met Ser Val Ala Ser Phe Leu Cys Pro
275 280 285

Cys Asp Ser Ala Lys Ile Ser Ala Pro Lys Leu Leu Thr Glu Asp Gly
290 295 300

Ser Pro Val Ile Tyr Gln Asp Phe Thr Tyr Ala Glu Tyr Tyr Asn Lys
305 310 315 320

Phe Trp Ser Arg Asn Leu Asp Gln Gln His Cys Leu Glu Leu Phe Lys
325 330 335

Asn

<210> 78

<211> 342

<212> PRT

<213> Solanum lycopersicum

<400> 78

Met Thr Thr Thr Ser Val Leu Ser Ser Gly Phe Asn His Ser Thr Leu
1 5 10 15

Pro Gln Ser Tyr Val Arg Pro Glu Ser Gln Arg Pro Cys Met Ser Glu
20 25 30

Val Val Asp Ser Asp Asp Leu Val Pro Val Ile Asp Met Ser Cys Thr
35 40 45

Asn Arg Asn Val Ile Val His Gln Ile Gly Glu Ala Cys Arg Leu Tyr
50 55 60

Gly Phe Phe Gln Val Ile Asn His Gly Val Ser Lys Lys Val Ile Asp
65 70 75 80

Glu Met Leu Gly Val Ser His Glu Phe Phe Lys Leu Pro Val Glu Glu
85 90 95

Lys Met Lys Leu Tyr Ser Asp Asp Pro Ser Lys Thr Met Arg Leu Ser
100 105 110

Thr Ser Phe Asn Val Lys Lys Glu Thr Val His Asn Trp Arg Asp Tyr
115 120 125

Leu Arg Leu His Cys Tyr Pro Leu Asp Lys Tyr Ala Pro Glu Trp Pro

ES 2 560 677 T3

130

135

140

Ser Asn Pro Pro Ser Phe Arg Glu Ile Val Ser Lys Tyr Cys Met Glu
145 150 155 160

Val Arg Glu Leu Gly Tyr Arg Leu Glu Glu Ala Ile Ser Glu Ser Leu
165 170 175

Gly Leu Glu Lys Asp Cys Ile Lys Asn Val Leu Gly Glu Gln Gly Gln
180 185 190

His Met Ala Ile Asn Phe Tyr Pro Gln Cys Pro Gln Pro Glu Leu Thr
195 200 205

Tyr Gly Leu Pro Ala His Thr Asp Pro Asn Ala Ile Thr Ile Leu Leu
210 215 220

Gln Asp Leu Gln Val Ala Gly Leu Gln Val Leu Lys Asp Gly Lys Trp
225 230 235 240

Leu Ser Ile Lys Pro Gln Pro Asn Ala Phe Val Ile Asn Leu Gly Asp
245 250 255

Gln Leu Glu Ala Leu Ser Asn Gly Lys Tyr Lys Ser Ile Trp His Arg
260 265 270

Ala Ile Val Asn Ser Asp Lys Ala Arg Met Ser Val Ala Ser Phe Leu
275 280 285

Cys Pro Asn Asp Cys Ser Ile Ile Ser Ala Pro Lys Thr Leu Thr Glu
290 295 300

Asp Gly Ser Ser Ala Ile Tyr Arg His Phe Thr Tyr Ala Glu Tyr Tyr
305 310 315 320

Glu Lys Phe Trp Ser Arg Asn Leu Asp Gln Glu Tyr Cys Leu Glu Leu
325 330 335

Phe Lys Asn Asp Gly Thr
340

<210> 79

<211> 336

5 <212> PRT

<213> Sorghum bicolor

<400> 79

10 Met Ala Glu Gln Leu Leu Ser Thr Ala Val His Asp Thr Leu Pro Gly
1 5 10 15

ES 2 560 677 T3

Ser Tyr Val Arg Pro Glu Ser Gln Arg Pro Arg Leu Ala Glu Val Val
 20 25 30
 Thr Gly Ala Arg Ile Pro Val Val Asp Leu Gly Ser Pro Asp Arg Ala
 35 40 45
 Ala Val Val Ala Ala Ile Gly Asp Ala Cys Arg Ser His Gly Phe Phe
 50 55 60
 Gln Val Leu Asn His Gly Val His Ala Asp Leu Val Ala Ala Val Met
 65 70 75 80
 Ala Val Gly Arg Ala Phe Phe Arg Leu Ser Pro Glu Glu Lys Ala Lys
 85 90 95
 Leu Tyr Ser Asp Asp Pro Ala Arg Lys Ile Arg Leu Ser Thr Ser Phe
 100 105 110
 Asn Val Arg Lys Glu Thr Val His Asn Trp Arg Asp Tyr Leu Arg Leu
 115 120 125
 His Cys His Pro Leu Asp Glu Phe Val Pro Asp Trp Pro Ser Asn Pro
 130 135 140
 Pro Asp Phe Lys Asp Thr Met Ser Thr Tyr Cys Lys Glu Val Arg Glu
 145 150 155 160
 Leu Gly Phe Arg Leu Tyr Ala Ala Ile Ser Glu Ser Leu Gly Leu Glu
 165 170 175
 Ala Ser Tyr Met Lys Glu Thr Leu Gly Glu Gln Glu Gln His Met Ala
 180 185 190
 Val Asn Phe Tyr Pro Pro Cys Pro Glu Pro Glu Leu Thr Tyr Gly Leu
 195 200 205
 Pro Ala His Thr Asp Pro Asn Ala Leu Thr Ile Leu Leu Met Asp Gln
 210 215 220
 Asp Val Ala Gly Leu Gln Val Leu His Gly Gly Lys Trp Val Ala Val
 225 230 235 240
 Asn Pro Gln Pro Gly Ala Leu Ile Ile Asn Ile Gly Asp Gln Leu Gln
 245 250 255
 Ala Leu Ser Asn Gly Gln Tyr Arg Ser Val Trp His Arg Ala Val Val
 260 265 270

ES 2 560 677 T3

Asn Ser Asp Arg Glu Arg Met Ser Val Ala Ser Phe Leu Cys Pro Cys
275 280 285

Asn His Val Val Leu Gly Pro Ala Lys Lys Leu Val Thr Glu Asp Thr
290 295 300

Pro Ala Val Tyr Arg Ser Tyr Thr Tyr Asp Glu Tyr Tyr Lys Lys Phe
305 310 315 320

Trp Ser Arg Asn Leu Asp Gln Glu His Cys Leu Glu Leu Phe Arg Thr
325 330 335

<210> 80
<211> 1020
<212> ADN
<213> Spinacia oleracea

<400> 80

```
atggcacaaca agatattatc caccggaatt ccttacaaaa ccctccccga aagctacatc 60
cgacccgaaa atgagaggcc caacttatct caagtctccg attgcgagaa tgtccctggt 120
attgacttgg gtgccaaga ccgtactcaa acaatccacc aagtcttcaa tgcttgtaaa 180
aattacgggt ttttccaggt gattaatcat ggggtgtcaa aggaattagc ggagaagatg 240
caaaaggtag ctcgagagtt cttcgatatg tcggttgagg aaaaaatgaa attatatagt 300
gacgatccaa ctaaaacact aagattgtct acaagtttta acgttaacaa agaggaagtt 360
cataattgga gagattatct taggctccat tgttggcctc ttgagcaata tgtccccgaa 420
tggccttcta accccccttc cttcaaggaa atagttagca agtacataaa agaagttagg 480
gaacttggtt tcagagtcca agaactaata tcagagagtt tagggttgga gaaagattac 540
ataaagaatg tcctaggaga tcaaggacaa cacatggctc ttaattatta ccctgagtgc 600
ccggagccag agatgacata cgggttgccg ggtcactatg accctaagtc ccttaccatc 660
cttctccaag acttgcaagt atctggcctt caaatTTTTA aggatggtaa atggcttgct 720
gtcaaacctc aacctgatgc ttttgtcatt aacattggtg atcaattgca ggcattaagt 780
aacggtatat acaagagtgt atggcacaga gcagttgtga acacagataa gccaaagatta 840
tcagtagctt cattcctctg ccccgccaat gatgcgttga taagcgcgcc aacacctctg 900
accgccaacg gatcaccggc tgtatataga gactatacgt atcctgagta ctacaagact 960
ttctggagta ggaacttgga ccaagagcac tgcttggagc tttttaaaaa ccaaacctag 1020
```

<210> 81
<211> 339
<212> PRT
<213> Spinacia oleracea

<400> 81

Met Ala Asn Lys Ile Leu Ser Thr Gly Ile Pro Tyr Lys Thr Leu Pro

ES 2 560 677 T3

1	5	10	15
Glu Ser Tyr Ile Arg Pro Glu Asn Glu Arg Pro Asn Leu Ser Gln Val	20	25	30
Ser Asp Cys Glu Asn Val Pro Val Ile Asp Leu Gly Ala Lys Asp Arg	35	40	45
Thr Gln Thr Ile His Gln Val Phe Asn Ala Cys Lys Asn Tyr Gly Phe	50	55	60
Phe Gln Val Ile Asn His Gly Val Ser Lys Glu Leu Ala Glu Lys Met	65	70	75
Gln Lys Val Ala Arg Glu Phe Phe Asp Met Ser Val Glu Glu Lys Met	85	90	95
Lys Leu Tyr Ser Asp Asp Pro Thr Lys Thr Leu Arg Leu Ser Thr Ser	100	105	110
Phe Asn Val Asn Lys Glu Glu Val His Asn Trp Arg Asp Tyr Leu Arg	115	120	125
Leu His Cys Trp Pro Leu Glu Gln Tyr Val Pro Glu Trp Pro Ser Asn	130	135	140
Pro Pro Ser Phe Lys Glu Ile Val Ser Lys Tyr Ile Lys Glu Val Arg	145	150	155
Glu Leu Gly Phe Arg Val Gln Glu Leu Ile Ser Glu Ser Leu Gly Leu	165	170	175
Glu Lys Asp Tyr Ile Lys Asn Val Leu Gly Asp Gln Gly Gln His Met	180	185	190
Ala Leu Asn Tyr Tyr Pro Glu Cys Pro Glu Pro Glu Met Thr Tyr Gly	195	200	205
Leu Pro Gly His Thr Asp Pro Asn Ala Leu Thr Ile Leu Leu Gln Asp	210	215	220
Leu Gln Val Ser Gly Leu Gln Ile Phe Lys Asp Gly Lys Trp Leu Ala	225	230	235
Val Lys Pro Gln Pro Asp Ala Phe Val Ile Asn Ile Gly Asp Gln Leu	245	250	255
Gln Ala Leu Ser Asn Gly Ile Tyr Lys Ser Val Trp His Arg Ala Val	260	265	270

ES 2 560 677 T3

Val Asn Thr Asp Lys Pro Arg Leu Ser Val Ala Ser Phe Leu Cys Pro
275 280 285

Ala Asn Asp Ala Leu Ile Ser Ala Pro Thr Pro Leu Thr Ala Asn Gly
290 295 300

Ser Pro Ala Val Tyr Arg Asp Tyr Thr Tyr Pro Glu Tyr Tyr Lys Thr
305 310 315 320

Phe Trp Ser Arg Asn Leu Asp Gln Glu His Cys Leu Glu Leu Phe Lys
325 330 335

Asn Gln Thr

<210> 82

<211> 338

<212> PRT

<213> Vitis sp.

<400> 82

Met Glu Ser Lys Val Leu Ser Thr Gly Ile Arg Tyr Leu Thr Leu Pro
1 5 10 15

Gln Ser Tyr Ile Arg Pro Glu Pro Glu Arg Pro Arg Leu Ser Gln Val
20 25 30

Ser Glu Cys Lys His Val Pro Ile Ile Asp Leu Gly Lys Asp Val Asn
35 40 45

Arg Ala Gln Leu Ile Gln His Ile Ala Asp Ala Cys Arg Leu Tyr Gly
50 55 60

Phe Phe Gln Val Ile Asn His Gly Val Ala Ala Glu Met Met Glu Lys
65 70 75 80

Met Leu Glu Val Ala Asp Glu Phe Tyr Arg Leu Pro Val Glu Glu Lys
85 90 95

Met Lys Leu Tyr Ser Asp Asp Pro Thr Lys Thr Met Arg Leu Ser Thr
100 105 110

Ser Phe Asn Val Asn Lys Glu Lys Val His Asn Trp Arg Asp Tyr Leu
115 120 125

Arg Leu His Cys Tyr Pro Leu Asp Gln Tyr Thr Pro Glu Trp Pro Ser
130 135 140

ES 2 560 677 T3

Asn Pro Pro Ser Phe Lys Glu Ile Val Ser Ser Tyr Cys Lys Glu Val
145 150 155 160

Arg Glu Leu Gly Phe Arg Leu Gln Glu Met Ile Ser Glu Ser Leu Gly
165 170 175

Leu Glu Lys Asp His Ile Lys Asn Val Phe Gly Glu Gln Gly Gln His
180 185 190

Met Ala Val Asn Tyr Tyr Pro Pro Cys Pro Gln Pro Glu Leu Thr Tyr
195 200 205

Gly Leu Pro Gly His Thr Asp Pro Asn Ala Leu Thr Ile Leu Leu Gln
210 215 220

Asp Leu Arg Val Ala Gly Leu Gln Val Leu Lys Asp Gly Thr Trp Leu
225 230 235 240

Ala Ile Lys Pro His Pro Gly Ala Phe Val Val Asn Ile Gly Asp Gln
245 250 255

Leu Gln Ala Val Ser Asn Gly Lys Tyr Lys Ser Val Trp His Arg Ala
260 265 270

Val Val Asn Ala Glu Ser Glu Arg Leu Ser Val Ala Ser Phe Leu Cys
275 280 285

Pro Cys Asn Asp Ala Val Ile Gly Pro Ala Lys Pro Leu Thr Glu Asp
290 295 300

Gly Ser Ala Pro Ile Tyr Lys Asn Phe Thr Tyr Ala Glu Tyr Tyr Lys
305 310 315 320

Lys Phe Trp Gly Arg Asp Leu Asp Gln Glu His Cys Leu Glu Leu Phe
325 330 335

Lys Asn

<210> 83

<211> 336

5 <212> PRT

<213> Zea mays

<400> 83

Met Ala Glu His Leu Leu Ser Thr Ala Val His Asp Thr Leu Pro Gly
1 5 10 15

10 Ser Tyr Val Arg Pro Glu Pro Glu Arg Pro Arg Leu Ala Glu Val Val
20 25 30

ES 2 560 677 T3

Thr Gly Ala Arg Ile Pro Val Val Asp Leu Gly Ser Pro Asp Arg Gly
 35 40 45
 Ala Val Val Ala Ala Val Gly Asp Ala Cys Arg Ser His Gly Phe Phe
 50 55 60
 Gln Val Val Asn His Gly Ile His Ala Ala Leu Val Ala Ala Val Met
 65 70 75 80
 Ala Ala Gly Arg Gly Phe Phe Arg Leu Pro Pro Glu Glu Lys Ala Lys
 85 90 95
 Leu Tyr Ser Asp Asp Pro Ala Arg Lys Ile Arg Leu Ser Thr Ser Phe
 100 105 110
 Asn Val Arg Lys Glu Thr Val His Asn Trp Arg Asp Tyr Leu Arg Leu
 115 120 125
 His Cys His Pro Leu Asp Glu Phe Leu Pro Asp Trp Pro Ser Asn Pro
 130 135 140
 Pro Asp Phe Lys Glu Thr Met Gly Thr Tyr Cys Lys Glu Val Arg Glu
 145 150 155 160
 Leu Gly Phe Arg Leu Tyr Ala Ala Ile Ser Glu Ser Leu Gly Leu Glu
 165 170 175
 Ala Ser Tyr Met Lys Glu Ala Leu Gly Glu Gln Glu Gln His Met Ala
 180 185 190
 Val Asn Phe Tyr Pro Pro Cys Pro Glu Pro Glu Leu Thr Tyr Gly Leu
 195 200 205
 Pro Ala His Thr Asp Pro Asn Ala Leu Thr Ile Leu Leu Met Asp Pro
 210 215 220
 Asp Val Ala Gly Leu Gln Val Leu His Ala Gly Gln Trp Val Ala Val
 225 230 235 240
 Asn Pro Gln Pro Gly Ala Leu Ile Ile Asn Ile Gly Asp Gln Leu Gln
 245 250 255
 Ala Leu Ser Asn Gly Gln Tyr Arg Ser Val Trp His Arg Ala Val Val
 260 265 270
 Asn Ser Asp Arg Glu Arg Met Ser Val Ala Ser Phe Leu Cys Pro Cys
 275 280 285
 Asn His Val Val Leu Gly Pro Ala Arg Lys Leu Val Thr Glu Asp Thr
 290 295 300
 Pro Ala Val Tyr Arg Asn Tyr Thr Tyr Asp Lys Tyr Tyr Ala Lys Phe
 305 310 315 320
 Trp Ser Arg Asn Leu Asp Gln Glu His Cys Leu Glu Leu Phe Arg Thr
 325 330 335

ES 2 560 677 T3

<210> 84
 <211> 346
 <212> PRT
 <213> Zingiber officinale

5

<400> 84

```

Met Ala Asp Met Leu Leu Ser Ile Gly Glu His Asp Thr Met Pro Arg
 1           5           10           15

Asn Tyr Val Arg Pro Glu Asn Glu Arg Pro His Leu Asp Asn Val Ile
          20           25           30

Ala Asp Ala Asn Ile Pro Val Val Asp Phe Gly Ala Pro Asp Lys Ser
          35           40           45

Gln Ile Ile Ser Gln Ile Glu Lys Ala Cys Arg Leu Tyr Gly Phe Phe
 50           55           60

Gln Val Val Asn His Gly Ile Ala Ala Glu Leu Ile Lys Lys Val Leu
 65           70           75           80

Ala Ile Ala Leu Glu Phe Phe Arg Leu Pro Gln Glu Glu Lys Ala Lys
          85           90           95

Leu Tyr Ser Asp Asp Pro Ala Lys Lys Ile Arg Leu Ser Thr Ser Phe
          100          105          110

Asn Val Arg Lys Glu Thr Val His Asn Trp Arg Asp Tyr Leu Arg Leu
          115          120          125

His Cys Tyr Pro Leu Glu Glu Phe Ile Pro Asp Trp Pro Ser Asn Pro
          130          135          140

Ser Ser Phe Lys Asp Val Phe Gly Ser Tyr Cys Gln Gln Val Arg Lys
          145          150          155          160

Leu Gly Phe Arg Ile Leu Gly Ile Ile Ser Leu Ser Leu Gly Leu Glu
          165          170          175

Glu Glu Tyr Leu Val Arg Val Leu Gly Glu Gln Glu Gln His Met Ala
  
```

ES 2 560 677 T3

180	185	190
Val Asn Tyr Tyr Pro Lys Cys Pro Glu Pro Glu Leu Thr Tyr Gly Leu		
195	200	205
Pro Ala His Thr Asp Pro Asn Ala Leu Thr Ile Leu Leu Gln Asp Pro		
210	215	220
His Val Ser Gly Leu Gln Val His Lys Asp Gly Lys Trp Ile Ala Val		
225	230	235
240		
Asp Pro Lys Pro Asn Ala Phe Val Ile Asn Ile Gly Asp Gln Leu Gln		
245	250	255
Ala Leu Ser Asn Gly Arg Tyr Lys Ser Val Trp His Arg Ala Val Val		
260	265	270
Asn Ser Asn Lys Glu Arg Met Ser Val Ala Ser Phe Leu Cys Pro Cys		
275	280	285
Asn Ser Val Leu Ile Ser Pro Pro Glu Lys Leu Ile Ala Asp Gly Cys		
290	295	300
Pro Ala Val Tyr Arg Ser Tyr Thr Tyr Asp Glu Tyr Tyr Lys Lys Phe		
305	310	315
320		
Trp Ser Arg Asn Leu Asp Gln Glu His Cys Leu Glu Leu Phe Lys Lys		
325	330	335
Glu Arg Glu Thr Cys Pro Asp Ala Pro Thr		
340	345	

<210> 85
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> cebador directo AtDMR6_fw

<400> 85

caccatggcg gcaaagctga ta 22

<210> 86
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> cebador inverso AtDMR6UTR_rv

<400> 86

gacaaacaca aaggccaaag a 21

<210> 87
 <211> 24
 <212> ADN

<213> Artificial
 <220>
 <223> cebador directo cuc_fw
 5 <400> 87
 caccatgagc agtgtgatgg agat 24
 10 <210> 88
 <211> 20
 <212> ADN
 <213> Artificial
 15 <220>
 <223> cebador inverso cucUTR_rv
 <400> 88
 20 tgggccaaaa agtttatcca 20
 <210> 89
 <211> 27
 <212> ADN
 25 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador directo spi_fw
 30 <400> 89
 caccatggca aacaagatat tatccac 27
 <210> 90
 35 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 40 <223> cebador inverso spiUTR_rv
 <400> 90
 ttgctgccta caaaagtaca aa 22
 45 <210> 91
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Artificial
 50 <220>
 <223> cebador directo Lsat_fw
 <400> 91
 55 caccatggcc gcaaaagtca tctc 24
 <210> 92
 <211> 22
 60 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 <223> cebador inverso LsatUTR_rv
 65 <400> 92

ES 2 560 677 T3

catggaaca catattcctt ca 22

5 <210> 93
<211> 28
<212> ADN
<213> Artificial

10 <220>
<223> cebador directo Slyc1dmr6_fw

<400> 93

15 caccatggaa accaaagtta ttcttagc 28

<210> 94
<211> 20
<212> ADN
<213> Artificial

20 <220>
<223> cebador inverso Slyc1dmr6UTR_rv

<400> 94

25 gggacatccc tatgaaccaa 20

30 <210> 95
<211> 1013
<212> ADN
<213> Solanum lycopersicum

<400> 95

atggaaccaa aagttatttc tagcggaaac aaccactcta ctcttcctca aagttacatc 60

cgacccgaat ccgatagacc acgtctatcg gaagtggctcg attgtgaaaa tgttccaata 120

attgacttaa gttgaggaga tcaagctcaa ataattcgctc aaattggaga agcttgtcaa 180

acttatgggtt tctttcaggt aattaatcat ggtgtaccaa aggaagttgt agagaaaatg 240

ctaggggtag ctgggggaatt tttcaattta ccagtagaag agaaactaaa attatattca 300

gatgatcctt caaagaccat gagattatca acaagtttta atgttaaaaa ggagacagtt 360

cataattgga gagattatct cagacttcat tgttatcctc tagagaagta tgctcctgaa 420

tggccttcta atccatcatc tttcagggaa atcgtgagca gatattgcag ggaaattcgt 480

caactcggat ttagattaga agaagccata gcagaaagcc tgggggttaga taaagagtgt 540

ataaaagatg tattgggtga acaaggacaa catatggcta tcaattatta tcctccttgt 600

ccacaaccag aacttactta tgggcttccg gccatactg atccaaattc acttacaatt 660

cttcttcaag acttgcaagt tgcgggtcct caagttctta aagatggcaa atgggttagct 720

35 gtaaaacctc aacctgacgc ctttgtcatt aatcttgggg atcaattgca ggcagtaagt 780

aacggtaagt acagaagtgt atggcatcga gctattgtga attcagatca agctaggatg 840

tcagtggctt cgtttctatg tccgtgtgat agcgcgaaaa tcagtgcacc aaagctgctg 900

acagaagatg gatctccagt gatttatcaa gactttacgt atgctgagta ttacaacaag 960

ttctggagca ggaatttgga ccagcaacat tgtttggaac ttttcaagaa taa 1013

ES 2 560 677 T3

<210> 96
 <211> 337
 <212> PRT
 <213> Solanum lycopersicum

5

<400> 96

```

Met Glu Thr Lys Val Ile Ser Ser Gly Ile Asn His Ser Thr Leu Pro
 1              5              10              15

Gln Ser Tyr Ile Arg Pro Glu Ser Asp Arg Pro Arg Leu Ser Glu Val
      20              25              30

Val Asp Cys Glu Asn Val Pro Ile Ile Asp Leu Ser Cys Gly Asp Gln
      35              40              45

Ala Gln Ile Ile Arg Gln Ile Gly Glu Ala Cys Gln Thr Tyr Gly Phe
      50              55              60

Phe Gln Val Ile Asn His Gly Val Pro Lys Glu Val Val Glu Lys Met
65              70              75              80

Leu Gly Val Ala Gly Glu Phe Phe Asn Leu Pro Val Glu Glu Lys Leu
      85              90              95

Lys Leu Tyr Ser Asp Asp Pro Ser Lys Thr Met Arg Leu Ser Thr Ser
      100              105              110

Phe Asn Val Lys Lys Glu Thr Val His Asn Trp Arg Asp Tyr Leu Arg
      115              120              125

Leu His Cys Tyr Pro Leu Glu Lys Tyr Ala Pro Glu Trp Pro Ser Asn
      130              135              140

Pro Ser Ser Phe Arg Glu Ile Val Ser Arg Tyr Cys Arg Glu Ile Arg
145              150              155              160

Gln Leu Gly Phe Arg Leu Glu Glu Ala Ile Ala Glu Ser Leu Gly Leu
      165              170              175

Asp Lys Glu Cys Ile Lys Asp Val Leu Gly Glu Gln Gly Gln His Met
      180              185              190

Ala Ile Asn Tyr Tyr Pro Pro Cys Pro Gln Pro Glu Leu Thr Tyr Gly

```

ES 2 560 677 T3

195	200	205
Leu Pro Ala His Thr Asp 210	Pro Asn Ser Leu Thr 215	Ile Leu Leu Gln Asp 220
Leu Gln Val Ala Gly 225	Leu Gln Val Leu Lys Asp 230	Gly Lys Trp Leu Ala 235
Val Lys Pro Gln 245	Pro Asp Ala Phe Val 250	Ile Asn Leu Gly Asp Gln Leu 255
Gln Ala Val Ser Asn Gly Lys Tyr 260	Arg Ser Val Trp His Arg Ala Ile 265	
Val Asn Ser Asp Gln Ala Arg Met 275	Ser Val Ala Ser Phe Leu Cys Pro 280	
Cys Asp Ser Ala Lys Ile 290	Ser Ala Pro Lys Leu 295	Leu Thr Glu Asp Gly 300
Ser Pro Val Ile Tyr Gln Asp Phe Thr Tyr 305	Ala Glu Tyr Tyr Asn Lys 310	
Phe Trp Ser Arg Asn Leu Asp Gln Gln His 325	Cys Leu Glu Leu Phe Lys 330	

Asn

<210> 97

<211> 1014

<212> ADN

<213> Nicotiana benthamiana

<400> 97

atggaagcaa aagttctttc cagcggaatc cgccactcta ctatccctca aagttacatc	60
cgccctcaat ccgataggcc gcgcctttct gaagttgctg attgtgaaaa cgttccagta	120
gttgatatag gttgcggtga tagaaacctt attgttcatc aaattggtga agcctgtcgt	180
ctttatggtt ttttcaggt aattaatcat ggtgtaccaa agaatttaat agacgaaatg	240
ctagagatag ctggggaatt ttttaggctt ccagttgaag agaagttgaa attgtactca	300
gatgacccat cgaagacgat gagattgtcg actagtttta atgtgaaaaa ggagaagggt	360
cacaattgga gagattatct cagacttcat tgttatcctc ttgaaaatta cgctcctgaa	420
tggccttcca atccttcctc tttcagggaa atcgtgagca gatattgcat ggaagttcga	480
caactcgggt tcagattgca ggaagccata gcagagagcc taggcttaga gaaagagtgt	540
ataaaggatg tattgggcga acaaggtcaa cacatggcta tcaatttcta tcctccttgt	600

ES 2 560 677 T3

ccacaaccag aactcactta tgggctgccg gcacatactg atccaaatgc ccttacaatt 660
cttcttcaag acttagaagt agctggctct caagttctta aagatggcga atggttggcc 720
gtcaagcctc aaccagatgc ctttgtcatt aatcttggtg atcaactgca ggcagtgagt 780
aatgggagat acaaaagcgt atggcatcga gctattgtaa attcagacaa agccagggtg 840
tcagtggcct cgttcctttg tccgtgcgat agcgcgaaaa tcagtgtctc aaagctcctc 900
actgaagatg gatctcctgt catttatcag gactttacct atgctgagta ttacaaaaag 960
ttctggagca ggaatttgga ccaggaacat tgtttggaac ttttcaagaa ctaa 1014

<210> 98

<211> 337

<212> PRT

<213> Nicotiana benthamiana

<400> 98

Met Glu Ala Lys Val Leu Ser Ser Gly Ile Arg His Ser Thr Ile Pro
1 5 10 15

Gln Ser Tyr Ile Arg Pro Gln Ser Asp Arg Pro Arg Leu Ser Glu Val
20 25 30

Ala Asp Cys Glu Asn Val Pro Val Val Asp Ile Gly Cys Gly Asp Arg
35 40 45

Asn Leu Ile Val His Gln Ile Gly Glu Ala Cys Arg Leu Tyr Gly Phe
50 55 60

Phe Gln Val Ile Asn His Gly Val Pro Lys Asn Leu Ile Asp Glu Met
65 70 75 80

Leu Glu Ile Ala Gly Glu Phe Phe Arg Leu Pro Val Glu Glu Lys Leu
85 90 95

Lys Leu Tyr Ser Asp Asp Pro Ser Lys Thr Met Arg Leu Ser Thr Ser
100 105 110

Phe Asn Val Lys Lys Glu Lys Val His Asn Trp Arg Asp Tyr Leu Arg
115 120 125

Leu His Cys Tyr Pro Leu Glu Asn Tyr Ala Pro Glu Trp Pro Ser Asn
130 135 140

Pro Ser Ser Phe Arg Glu Ile Val Ser Arg Tyr Cys Met Glu Val Arg
145 150 155 160

Gln Leu Gly Phe Arg Leu Gln Glu Ala Ile Ala Glu Ser Leu Gly Leu
165 170 175

ES 2 560 677 T3

Glu Lys Glu Cys Ile Lys Asp Val Leu Gly Glu Gln Gly Gln His Met
180 185 190

Ala Ile Asn Phe Tyr Pro Pro Cys Pro Gln Pro Glu Leu Thr Tyr Gly
195 200 205

Leu Pro Ala His Thr Asp Pro Asn Ala Leu Thr Ile Leu Leu Gln Asp
210 215 220

Leu Glu Val Ala Gly Leu Gln Val Leu Lys Asp Gly Glu Trp Leu Ala
225 230 235 240

Val Lys Pro Gln Pro Asp Ala Phe Val Ile Asn Leu Gly Asp Gln Leu
245 250 255

Gln Ala Val Ser Asn Gly Arg Tyr Lys Ser Val Trp His Arg Ala Ile
260 265 270

Val Asn Ser Asp Lys Ala Arg Leu Ser Val Ala Ser Phe Leu Cys Pro
275 280 285

Cys Asp Ser Ala Lys Ile Ser Ala Pro Lys Leu Leu Thr Glu Asp Gly
290 295 300

Ser Pro Val Ile Tyr Gln Asp Phe Thr Tyr Ala Glu Tyr Tyr Lys Lys
305 310 315 320

Phe Trp Ser Arg Asn Leu Asp Gln Glu His Cys Leu Glu Leu Phe Lys
325 330 335

Asn

REIVINDICACIONES

1. Planta de espinaca que es resistente a *Peronospora farinosa*, caracterizada porque la planta tiene un nivel reducido, actividad reducida o ausencia completa de la proteína DMR6 en comparación con la planta que no es resistente a dicho patógeno en donde
- 5 dicha planta tiene una mutación en su gen *DMR6* dando como resultado una proteína DMR6 con actividad enzimática reducida en comparación con la proteína DMR6 codificada por el gen *DMR6* silvestre en donde tal mutación no está presente; o
dicha planta tiene una mutación en su gen *DMR6* dando como resultado una expresión reducida de DMR6 en comparación con el gen *DMR6* silvestre en donde no está presente tal mutación.
- 10 2. Planta como la reivindicada en la reivindicación 1, en donde dicha planta tiene una mutación en su gen *DMR6* dando como resultado una proteína DMR6 con actividad enzimática reducida en comparación con la proteína DMR6 codificada por el gen *DMR6* silvestre en donde no está presente tal mutación dicha mutación en el gen *DMR6* conduce a una sustitución de aminoácidos en la proteína codificada.
- 15 3. Planta como la reivindicada en la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde el gen tiene la secuencia de nucleótidos y la secuencia de aminoácidos como la mostrada en la Figura 4.
4. Método para obtener una planta de espinaca que es resistente a *Peronospora farinosa* que comprende la reducción del nivel endógeno de la proteína DMR6 en la planta mediante mutación del gen *DMR6* de la planta.
5. Método de acuerdo con la reivindicación 4, en donde la mutación está afectada por el tratamiento mutagénico de la planta, en particular con mutágenos o radiación.
- 20 6. Método de acuerdo con la reivindicación 4, en donde la reducción del nivel endógeno en la planta se consigue al reducir la expresión del gen *DMR6* de la planta mediante silenciamiento del gen o ARNi.
7. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, en donde el gen *DMR6* a mutar tiene secuencia de nucleótidos y secuencia de aminoácidos como la mostrada en la Figura 4.

Fig. 1

```

Arabidopsis      -----MAAKLISTGFRHTTLPENYVRPISDRPRLSEVSQLED-FPLIDL 43
Aquilegia_sp    -----MESSNVLLTGTRHSNLPENYVRSVSDRRLSEVKDCEN-VPVIDL 44
Citrus_sinensis -----MDTKVLSSGIRYTNLPESYVRPESERPNLSEVSECKN-VPVIDL 43
Coffea_canephora -----METKVISSGIKYTSLPESYVRPESERPNLSEVSDCQN-VPVVDL 43
Cucumis_sativus --MSSVMEIQLLCSGGRHEKLPEKYERPESDRPRLSEVCCWDK-VPIIDL 47
Gossypium_hirsutum -----MDTKVLSSGIHYSSLPESYVRPESERPNLSEVSCDN-VPVIDL 43
Lactuca_sativa  -----MAAKVISSGFRTTLPESYVRPVNDRPNLSQVSDCND-VPVIDI 43
Medicago_truncatula -----MDTKVLSSGIHYSKLPESYIRPESDRPCLSQVSEFEN-VPIIDL 43
Oryza_sativa_1  MAAEAEQQHQLLSTAVH-DTMPGKYVRPESQRPRLDLVSDAR-IPVVDL 48
Oryza_sativa_2  -----MADQLISTADH-DTLPNGYVRPEAQRPRLDVLSAS-IPVVDL 42
Oryza_sativa_3  -----MATQQLSTVEHRETLPESYVRPESDRPRLAEVATDSN-IPVVDL 44
Populus_trichocarpa_1 -----MDTKVLSSGIQYTNLPASYVRPESERPNLSEVSTCEN-VPVIDL 43
Populus_trichocarpa_2 -----MDTKVISSGVHYTNLPASYVRPESERPNLSEVSTCED-VPVIDL 43
Solanum_lycopersicum_1 -----METKVISSGINHSTLPQSYIRPESDRPRLSEVVDEN-VPIIDL 43
Solanum_lycopersicum_2 -----MTTTSVLSSGFNHSSTLPQSYVRPESQRPCSEVVDSDDLVPVIDM 45
Sorghum_bicolor -----MAEQLLSTAVH-DTLPGSYVRPESQRPRLAEVVTGAR-IPVVDL 42
Spinacia_oleracea -----MANKILSTGIPYKTLPEYIRPENERPNLSQVSDCEN-VPVIDL 43
Vitis          -----MESKVLSTGIRYLTLPQSYIRPEPERPRLSQVSECKH-VPIIDL 43
Zea_mays       -----MAEHLSTAVH-DTLPGSYVRPEPERPRLAEVVTGAR-IPVVDL 42
Zingiber_officinale -----MADMLLSIGE-HDTMPRNYVRPENERPHLDNVIADAN-IPVVDL 42
      ::          .:* * *. :*: * .*:*:

Arabidopsis      S-STDRSFLIQQIHQACARFGFFQVINHGUNKQIIDEMVSVAREFFSM 92
Aquilegia_sp    S-VADESLLAQQIGNACKSHGFFQVINHGVSSELVEKMMIEISHEFFHLPL 93
Citrus_sinensis A-CDDRSLLVQQVADACKNYGFFQAINHEVPLETVERVLEVAKEFFNL 92
Coffea_canephora G-FGDRNLMVRQIGDACRDYGFFQVINHGVSCKDAVDKMLETATEFFSLPV 92
Cucumis_sativus G-CEEREMIVKQVEEACKSYGFFQVINHGVRKELVEKVIEVGKQFFELPM 96
Gossypium_hirsutum G-CEDRSHIVQQIALACINYGFFQVINHGVSKEAVERMLQVAHDFGLPV 92
Lactuca_sativa  G-CGDRQLISQQIGDACRRYGFQVINHGVPDEIVEKMQQVGREFFLLPV 92
Medicago_truncatula G-SHNRTQIVQQIGEACSSYGFFQVNVHGVPLEELKKTAEVAYDFFKL 92
Oryza_sativa_1  A-SPDRAAVVSAVGDACTHGFQVNVHGI DAALIASVMEVGREFFRLPA 97
Oryza_sativa_2  A-NPDRAKLVSQVGAACRSHGFFQVLNHGVPVELTSLVLAHADFRLPA 91
Oryza_sativa_3  A-SPDKPRVIAEIAQACRTYGFQVTNHGIAEELLEKVMAVALEFFRLPP 93
Populus_trichocarpa_1 G-CQERDQIVQQVGDACKNYGFFQVINHGVSLEAVEKMLGVADHFFSLPV 92
Populus_trichocarpa_2 G-CQDRNQIVQQVGDACEHYGFFQVINHGVSLEAVEKMLGVADHFFSLPV 92
Solanum_lycopersicum_1 S-CGDAQIIRQIGEACQTYGFFQVINHGVPKEVVEKMLGVAGEFFNL 92
Solanum_lycopersicum_2 S-CTNRNVIVHQIGEACRLYGFFQVINHGVSCKVIDEMLGVSHEFFKL 94
Sorghum_bicolor G-SPDRAAVVAAIGDACRSHGFFQVLNHGVHADLVAAMVAVGRAFFRLSP 91
Spinacia_oleracea G-AKDRTQTIHQVFNACKNYGFFQVINHGVSKELEKMQKVAREFFDMSV 92
Vitis          GKDVNRAQLIQHIADACRLYGFFQVINHGVAEMMEKMLEVADEFYRLPV 93
Zea_mays       G-SPDRGAVVAAVGDACRSHGFFQVNVHGIHAALVAAMVAVGRAFFRLPP 91
Zingiber_officinale G-APDKSQIISQIEKACRLYGFFQVNVHGIHAELIKKVLAIJAEFFRLPQ 91
      . :. : ** .****. ** : .*: :.

```

Fig. 1 (continuación)

Arabidopsis	EEKMKLYSDDPTKTRRLSTSFNVKKEEVNWRDYLRLHCYPIHKYVNEWP	142
Aquilegia_sp	DVKMQFYSDDPKTRMLSTSFNLKKESVHNWRDYLRLHCHPIEKYVQEW	143
Citrus_sinensis	EEKLKLYSDDPSKTRMLSTSFNVNKEKVNWRDYLRLHCYPLDKYVPEWP	142
Coffea_canephora	EEKLKLYSDDPSKTRMLSTSFNVKKEQFNWRDYLRLHCYPLEKYVPEWP	142
Cucumis_sativus	EEKLKLYSDDPSKTRMLSTSFNVKKEQFNWRDYLRLHCYPLSNYTPHWP	146
Gossypium_hirsutum	EEKMKLYSDDPSKTRMLSTSFNVKKEKVNWRDYLRLHCYPLHKYVPEWP	142
Lactuca_sativa	EEKMKLYSDDPSKTRMLSTSFNVKKEQFNWRDYLRLHCYPLDQYSPWP	142
Medicago_truncatula	EEKMKLYSDDPTKTRMLSTSFNVNKEEVNWRDYLRLHCYPLDNYVPEWP	142
Oryza_sativa_1	EEKAKLYSDDPAKKIRLSTSFNVKKEQFNWRDYLRLHCYPLHQFVPDWP	147
Oryza_sativa_2	EEKAKLYSDDPAKKIRLSTSFNVKKEQFNWRDYLRLHCYPLHRYLPDWP	141
Oryza_sativa_3	EEKEKLYSDEPSKKIRLSTSFNVKKEQFNWRDYLRLHCHPLEEFVPEWP	143
Populus_trichocarpa_1	EEKLKLYSDDPSKTRMLSTSFNVNKEKVNWRDYLRLHCYPLDKYAPEWP	142
Populus_trichocarpa_2	EEKLKLYSDDPSKTRMLSTSFNVNKEKVNWRDYLRLHCYPLDKYAPEWP	142
Solanum_lycopersicum_1	EEKLKLYSDDPSKTRMLSTSFNVKKEQFNWRDYLRLHCYPLEKYAPEWP	142
Solanum_lycopersicum_2	EEKMKLYSDDPSKTRMLSTSFNVKKEQFNWRDYLRLHCYPLDKYAPEWP	144
Sorghum_bicolor	EEKAKLYSDDPAKKIRLSTSFNVKKEQFNWRDYLRLHCHPLDEFVPDWP	141
Spinacia_oleracea	EEKMKLYSDDPTKTRMLSTSFNVNKEEVNWRDYLRLHCWPLEQYVPEWP	142
Vitis	EEKMKLYSDDPTKTRMLSTSFNVNKEKVNWRDYLRLHCYPLDQYTPWP	143
Zea_mays	EEKAKLYSDDPAKKIRLSTSFNVKKEQFNWRDYLRLHCHPLDEFVPDWP	141
Zingiber_officinale	EEKAKLYSDDPAKKIRLSTSFNVKKEQFNWRDYLRLHCYPLEEFVPDWP	141
	: * : *	
Arabidopsis	SNPPSFKEIVSKYSREVREVGFKIEELISESLGLEKDYMKKVLGEQGHM	192
Aquilegia_sp	SVPSTFKDQVATYCKEVRKGLRLGLSISLSLGLLEEDYIEKVLGDQGHM	193
Citrus_sinensis	SNPPSFKEIVSTYCEVRGLGYRVELISESLGLEKDYIKKVLGEQGHM	192
Coffea_canephora	SNPPSFKEIVSNYCVQIRELGLRLEEAIAESLGLDKECIKKVLGDQGHM	192
Cucumis_sativus	SNPPSFKEIVSYCYNEVRKVGRIEELISESLGLEKDYIKKVLGEQGHM	196
Gossypium_hirsutum	SNPPSFKEIVSDYCVQVRELGYRLQELISESLGLEKDYIKKVLGEQGHM	192
Lactuca_sativa	SNPPSFKEIVGNYCTAVRNLMRIEELISESLGLEKDYIKKVLGEQGHM	192
Medicago_truncatula	SNPPSFKEIVANYCKEVRGLRIEYIISLGLLEEDYIEKVLGDQGHM	192
Oryza_sativa_1	SNPPSFKEIIGTYCTEVRGLGYRVEAISESLGLEGGYMRTELGEQGHM	197
Oryza_sativa_2	SNPPSFKEIISTYCKEVRGLGYRVEAISESLGLEGGYMRTELGEQGHM	191
Oryza_sativa_3	SNPPSFKEIMSTYCEVRGLGLRLGAIISVSLGLEEDYIEKVLGEQGHM	193
Populus_trichocarpa_1	SKPPPFKEIVSYCYQVRELGFRIQELISESLGLEKDYIKKVLGEQGHM	192
Populus_trichocarpa_2	SNPPPFKEIVRSYQVRELGFRIQELISESLGLEKDYIKKVLGEQGHM	192
Solanum_lycopersicum_1	SNPPSFKEIVSYCYQVRELGFRIQELISESLGLEKDYIKKVLGEQGHM	192
Solanum_lycopersicum_2	SNPPSFKEIVSKYCEVRGLGYRVEAISESLGLEKDYIKKVLGEQGHM	194
Sorghum_bicolor	SNPPDFKDTMSTYCKEVRGLGYRVEAISESLGLEGGYMRTELGEQGHM	191
Spinacia_oleracea	SNPPSFKEIVSKYIKEVRGLGFRIQELISESLGLEKDYIKKVLGEQGHM	192
Vitis	SNPPSFKEIVSYCYQVRELGFRIQELISESLGLEKDYIKKVLGEQGHM	193
Zea_mays	SNPPDFKETMTGYCKEVRGLGYRVEAISESLGLEGGYMRTELGEQGHM	191
Zingiber_officinale	SNPPSFKEIVSYCYQVRELGFRIQELISESLGLEKDYIKKVLGEQGHM	191
	* * . * : : . * : * : * : : * : * : : : : : : : : : * * *	
Arabidopsis	AVNYPPCPPELTYGLPAHTDPNALTILLQDITVCGLOILI-DGQWFAV	241
Aquilegia_sp	AVNYPPCPPELTYGLPRHTDPNTITILLQDQEVAGLQVLK-NGKWWAV	242
Citrus_sinensis	AVNYPPCPPELTYGLPGHTDPNALTILLQDQEVAGLQVLK-DDKWWAV	241
Coffea_canephora	AVNYPPCPQPDLYTYGLPGHTDPNALTILLQDLNVAGLQVLK-DGRWLAV	241
Cucumis_sativus	AINYPPCPQPELTYGLPGHTDPNALTILLQDLNVAGLQVLK-DGKWLAV	245
Gossypium_hirsutum	AVNYPPCPPELTYGLPGHTDPNALTILLQDLNVAGLQVLK-DGKWLAV	241
Lactuca_sativa	AINHYPPCPPELTYGLPGHTDPNALTILLQDLNVAGLQVLK-DGKWLAV	241
Medicago_truncatula	AVNYPPCPQPELTYGLPGHTDPNALTILLQDLNVAGLQVLK-DGKWLAI	241
Oryza_sativa_1	AVNYPPCPPELTYGLPAHTDPNALTILLMDQVAGLQVLK-DGKWLAV	246
Oryza_sativa_2	AVNYPPCPPELTYGLPAHTDPNALTILLMDQVAGLQVLK-DGKWLAV	240
Oryza_sativa_3	AVNYPPCPPELTYGLPAHTDPNALTILLMDQVAGLQVLK-DGKWLAV	243
Populus_trichocarpa_1	AVNYPPCPPELTYGLPGHTDPNALTILLQDLNVAGLQVLK-DGKWWAV	241
Populus_trichocarpa_2	AVNYPPCPPELTYGLPAHTDPNALTILLQDLNVAGLQVLK-DGKWWAV	242
Solanum_lycopersicum_1	AINYPPCPQPELTYGLPAHTDPNALTILLQDLNVAGLQVLK-DGKWLAV	241

Fig. 1 (continuación)

Solanum_lycopersicum_2	AINFYPQCPPELTYGLPAHTDPNALTILLQDLQVAGLVQLK-DGKWLSI	243
Sorghum_bicolor	AVNFYPPCPEELTYGLPAHTDPNALTILLMDQDVAGLQVLHGG-KWVAV	240
Spinacia_oleracea	ALNYYPECFPEPTYGLPGHTDPNALTILLQDLQVSGLOIFK-DGKWLA	241
Vitis	AVNYYPCCPPELTLYGLPGHTDPNALTILLQDLRVAGLVQLK-DGTWLAI	242
Zea_mays	AVNFYPPCPEELTYGLPAHTDPNALTILLMDPDVAGLVHLHG-QWVAV	240
Zingiber_officinale	AVNYYPKCPEELTYGLPAHTDPNALTILLQDPHVSGLVQHKG-KWIAY	240
	..* *:*:*:*:**~*****::**** . *.***: . *.:	
Arabidopsis	NPHPDFVINIGDQLQALSNGVYKSVVHRAVTNTENPRLSVASFLCPADC	291
Aquilegia_sp	NPYPNAFVVNIGDQLQALSNGNYASVWHRAVTNTDRERISVASFLCPAND	292
Citrus_sinensis	NPLPNAFVINIGDQLQALSNGRYKSVVHRAIVNAEKARMSVASFLCPND	291
Coffea_canephora	KPHPDFAVVNIGDQLQALSNGIYKSVVHRAVNVADQPRLSVASFCLPCDH	291
Cucumis_sativus	NHPHNAFVINIGDQLQALSNGVYKSVVHRAVNVVDKPRLSVASFLCPCDD	295
Gossypium_hirsutum	NPQTNAFVINIGDQLQALSNGTYKSVVHRAIVNTDKPRMSVASFLCPYDH	291
Lactuca_sativa	KHPHNAFVINIGDQLEAVSNGEYKSVVHRAVNSDNPRMSTIASFLCPCND	291
Medicago_truncatula	NPLPDFAVINIGDQLQALSNGLYKSVVHRAIVNAEKPRLSVASFLCPCNE	291
Oryza_sativa_1	NPQPAGLVINIGDQLQALSNGKYRSVVHRAVNSDRERMSVASFLCPCNS	296
Oryza_sativa_2	NPQPNALVINIGDQLQALSNGRYKSVVHRAVNSDKARMSVASFLCPCND	290
Oryza_sativa_3	NPRPNALVVNLGDQLQALSNDAYKSVVHRAVNVNPQERMVSASFMCPCNS	293
Populus_trichocarpa_1	DPHPDFAVINIGDQLQALSNGRYKSVVHRAITNTDKARMSVASFLCPCYN	291
Populus_trichocarpa_2	NPHPDFAVINIGDQLQALSNGRYKSVVHRAITNTDKARMSVASFLCPCFN	292
Solanum_lycopersicum_1	KQPDPFAFVINIGDQLQAVSNGKYRSVVHRAIVNSDQARMSVASFLCPCDS	291
Solanum_lycopersicum_2	KQPQNAFVINIGDQLEALSNGKYKSIWHRAIVNSDKARMSVASFLCPCND	293
Sorghum_bicolor	NPQPAGLITINIGDQLQALSNGQYRSVVHRAVNSDRERMSVASFLCPCNH	290
Spinacia_oleracea	KQPDPFAVINIGDQLQALSNGIYKSVVHRAVNTDKPRLSVASFLCPCAN	291
Vitis	KPHPGAFFVNIGDQLQAVSNGKYRSVVHRAVNAESERLSVASFLCPCND	292
Zea_mays	NPQPAGLITINIGDQLQALSNGQYRSVVHRAVNSDRERMSVASFLCPCNH	290
Zingiber_officinale	DPKPNAAFVINIGDQLQALSNGRYKSVVHRAVNSNKERMVSASFCLPCNS	290
	. . .:~*:~*:~*:~*. * *:~**~* . *:~*:~*:~* :	
Arabidopsis	AVMSPAKPLWEAEDDETKFYKDFTYAEEYKKFWSRNLQDQEHCLENFLNN	341
Aquilegia_sp	AIICPA---VKDG---SPSMYKKFTYDEYYKKFWSGNLDQQHCELELFKE-	335
Citrus_sinensis	AMISPPKALTEDG---SGAVYRDFTYAEEYSKFWSRNLQDQEHCLELFKN-	337
Coffea_canephora	AVISAPKPLTADG---SPVYRDFTYAQYKKFWSRNLQDQEHCLELFKN-	337
Cucumis_sativus	ALITTPALLSQ----SPIYRPFTYAQYNTFWSRNLQDQQHCELELFKNH	341
Gossypium_hirsutum	ALISAPKPLTQHG---CGAVYRDFTYAEEYSKFWRNLQDQEHCLELFKN-	337
Lactuca_sativa	TVIRAPKEIIKEG---SKPVKEFTYAEYAKFWTRNLQDQEHCLEFFKN-	337
Medicago_truncatula	ALICPAKPLTEDG---SGAVYRGFTYPEYYSKFWSRDLQKEHCLEFFKNH	342
Oryza_sativa_1	VELGPAAKLITDD---SPAVYRNITYDEYYKKFWSRNLQDQEHCLELFRT-	338
Oryza_sativa_2	VLIGPAAKLITDG---SPAVYRNITYDEYYKKFWSRNLQDQEHCLELFRTT	337
Oryza_sativa_3	AVISAPARKLVADG---DAFVYRSFTYDEYYKKFWSRNLQDQEHCLELFKGQ	340
Populus_trichocarpa_1	ALITTPKALTDDG---TGAVYRDFTYAEEYKKFWSRDLQDQEHCLELFKNK	338
Populus_trichocarpa_2	ALITTPKALTDDG---TGAVYRDFTYAEEYKKFWSRNLQDQEHCLELFKN-	338
Solanum_lycopersicum_1	AKISAPKLLTEDG---SPVIYQDFTYAEYKNFWSRNLQDQHCLELFKN-	337
Solanum_lycopersicum_2	SIISAPKTLTEDG---SSAIYRHFTYAEEYKFWSRNLQDYCYCLELFKNQ	340
Sorghum_bicolor	VVLGPAAKLTVED---TPAVYRSYTYDEYYKKFWSRNLQDQEHCLELFRT-	336
Spinacia_oleracea	ALISAPTPLTANG---SPAVYRDITYEYKYTFWSRNLQDQEHCLELFKNQ	338
Vitis	AVIGPAAKPLTEDG---SAFIYKNFTYAEEYKKFWGRDLQDQEHCLELFKN-	338
Zea_mays	VVLGPAAKLTVED---TPAVYRNITYDKYYAKFWSRNLQDQEHCLELFRT-	336
Zingiber_officinale	VLISPEKPLTAGD---CPAVYRSYTYDEYYKKFWSRNLQDQEHCLEFKKE	337
	. . . : . : . : . : ~*~*~*~*~*~*~*~*~*~*~*~*~*~*~*~*	

Fig. 1 (continuación)

Arabidopsis	-----	
Aquilegia_sp	-----	
Citrus_sinensis	-----	
Coffea_canephora	-----	
Cucumis_sativus	PP-----	342
Gossypium_hirsutum	-----	
Lactuca_sativa	-----	
Medicago_truncatula	-----	
Oryza_sativa_1	-----	
Oryza_sativa_2	PTDTS----	342
Oryza_sativa_3	-----	
Populus_trichocarpa_1	-----	
Populus_trichocarpa_2	-----	
Solanum_lycopersicum_1	-----	
Solanum_lycopersicum_2	GT-----	342
Sorghum_bicolor	-----	
Spinacia_oleracea	T-----	339
Vitis	-----	
Zea_mays	-----	
Zingiber_officinale	RETCPDAPT	346

Fig. 2

> CDS de DMR6 de *Arabidopsis thaliana* (gi 42568064, Genbank NM_122361)
 ATGGCGGCAAGCTGATATCCACCGGTTTCCGTCATACTACTTTGCCGGAAACTATGTCCGGCCAATCT
 CCGACCGTCCACGTCTCTCTGAAGTCTCTCAACTCGAAGATTTCCCTCTCATCGATCTCTCTCCACTGA
 TCGATCTTTTCTCATCCAACAAATCCACCAAGCTTGTGCCCGATTCCGATTTTTTCAGGTCATAAATCAC
 GGAGTTAACAAACAAATAATAGATGAGATGGTGAGTGTGCGCGTGAGTTCTTTAGCATGTCTATGGAAG
 AAAAAATGAAGCTATATTTCAGACGATCCAACGAAGACAACAAGATTATCGACGAGCTTCAATGTGAAGAA
 AGAAGAAGTCAACAATTGGAGAGACTATCTAAGACTCCATTGTTATCCTATCCACAAGTATGTCAATGAG
 TGGCCGTCAAACCCCTCCTTCTTTCAAGGAAATAGTAAGTAAATACAGTAGAGAAGTAAGAGAAGTGGGAT
 TTAAAATAGAGGAATTAATATCAGAGAGCTTAGGTTTAGAAAAAGATTACATGAAGAAAGTGCTTGGTGA
 ACAAGGTCAACACATGGCAGTCAACTATTATCCTCCATGTCTGAACTGAGCTCACTTACGGTTTACCT
 GCTCATACCGACCCAAACGCCCTAACCATTCTTCTTCAAGACACTACTGTTTGGCGTCTCCAGATCTTGA
 TCGACGGTCAGTGGTTCGCCGTTAATCCACATCCTGATGCTTTTGTCAACAATAGGTGACCAGTTACA
 GGCATTAAGTAATGGAGTATACAAAAGTGTFTGGCATCGCGCTGTAACAAACACAGAAAATCCGAGACTA
 TCGGTCGCATCGTTTCTGTGCCAGCTGACTGTGCTGTCATGAGCCCGGCCAAGCCCTTGTGGGAAGCTG
 AGGACGATGAAACGAAACCAAGTCTACAAAGATTTCACTTATGCAGAGTATTACAAGAAGTTTGGAGTAG
 GAATCTGGACCAAGAACATTGCCTCGAGAATTTTCTAAACAATAA

> Proteína DMR6 de *Arabidopsis thaliana* (gi 15238567, Genbank NP_197841)
 MAAKLISGFRHTLPENYVRPISDRPRLSEVSQLEDFPLIDLSSDTRSFLLIQIHQACARFGFFQVINH
 GVNKQIIDEMVSVAREFFSMSMEKMKLYSDDPKTRTLSTSFNVKKEEVNNWRDYLRLHCYPIHKYVNE
 WPSNPPSFKEIVSKYSREVREVGFKIEELISESLGLEKDYMKKVLGEQGQHMAVNYPPCPEPELTYGLP
 AHTDPNALTILLQDQTTVCGLQILIDGQWFAVNPHPDAFVINIGDQLQALSNGVYKSVWHRAVTNTENPRL
 SVASFLCPADCAVMSPAKPLWEAEDDETKPVYKDFTYAEYYKKFWSRNLQEHCLNENLNN*

Fig. 3**> CDS ortóloga DMR6 de *Lactuca sativa***

ATGGCCGCAAAAGTCATCTCCAGTGGATTCCGGTATACTACTCTACCGGAGAGCTACGTCCGTCCGGTTAA
 CGACAGACCTAACCTATCTCAAGTTTCCGATTGCAACGACGTTCCCTGTTATTGACATCGGTGTGGTGATA
 GACAACTCATAAGCCAACAAATTGGCGATGCTTGTAGAAGATACGGTTTTTTCCAGGTGATTAATCATGGT
 GTGCCTGATGAAATAGTGGAGAAAATGCAACAAGTAGGTAGGGAGTTTTTCTGTGGCTGTGGAAGAGAA
 GATGAAGCTTTACTCAGAGGATCCATCGAAGACGATGAGGCTATCCACCAGCTTTAACGTCCAAAAAGAAC
 AAATTCATAACTGGCGAGATTATCTCCGCCTTCACTGTTATCCTCTGGATCAATACAGTCCTGAATGGCCT
 TCAAAATCCTTCTTATTTCAAGGAATATGTTGGTAATTATTGTACAGCAGTGCAGAAATTTAGGAATGAGAAT
 ATTAGAATCAATATCAGAAAGTTTAGGGTTACAAAAAGAAATAAAACTATATTAGGCGATCAAGGTC
 AACACATGGCCATCAACCATTACCCAGTGTGCCCTGAGCCCGAGCTAACCTACGGGCTACCCGGGCACACA
 GACCCCAATGCTCTCACCATCCTTCTACAGGACACACTGGTCTCTGGTCTTCAGGTCTCAAAGATGGCAA
 ATGGTTAGCCGTAAACCACACCCTAATGCGTTTGTAAATTAACATTGGTGATCAGTTAGAGGCGGTGAGTA
 ATGGTGAATATAAAAGTGTATGGCATCGAGCTGTGGTTAACTCAGACAACCCGCGAATGTCTATAGCTTCG
 TTTTGTGTCTTGTAAATGACACCGTTATTAGGGCTCCTAAAGAAATAATAAAGGAAGGATCGAAACCTGT
 TTTCAAAGAATTTACTTATGCAGAATACTACGCGAAGTTTTGGACAAGAAACCTTGATCAAGAACATTGCT
 TAGAATTCTTCAAGAACTAG

> Proteína ortóloga DMR6 de *Lactuca sativa*

MAAKVISSGFRYTTLPESYVRPVNDRPNLSQVSDCNDVPVIDIGCGDRQLISQQIGDACRRYGFFQVINHG
 VPDEIVEKMQQVGREFFLLPVEEKMKLYSEDPSKTMRLSTSFNVQKEQIHNWRDYLRLHCYPLDQYSPEWP
 SNPSYFKEYVGNICTAVRNLGMRILESISESLGLQKEEIKTILGDQGOHMAINHYFVCPPELTYGLPGHT
 DPNALTILLQDTLVSGLQVLKDGKWLAVKPHPNAFVINIGDQLEAVSNGEYKSVWHRAVVNSDNPRMSIAS
 FLCPCNDTVIRAPKEIKEGSKPVFKEFTYAEYYAKFWTRNLDQEHCLFFKN*

Fig. 4**> CDS ortóloga DMR6 de *Spinacia oleracea***

ATGGCAAACAAGATATTATCCACOGGAATTCCCTTACAAAACCCCTCCCCGAAAGCTACATCCGACCCGAAAA
 TGAGAGGCCCAACTTATCTCAAGTCTCCGATTGCGAGAATGTCCCTGTTATTGACTTGGGTGCCAAAGACC
 GTACTCAAACAATCCACCAAGTCTTCAATGCTTGTAATAAATTACGGGTTTTTCCAGGTGATTAATCATGGG
 GTGTCAAAGGAATTAGCGGAGAAGATGCAAAAGGTAGCTCGAGAGTTCTTCGATATGTCGGTTGAGGAAAA
 AATGAAATTATATAGTGACGATCCAACCTAAACACTAAGATTGTCTACAAGTTTTAACGTTAACAAAGAGG
 AAGTTCATAATTGGAGAGATTATCTTAGGCTCCATTGTTGGCCTCTTGAGCAATATGTCCCGAATGGCCT
 TCTAACCCCCCTTCCTTCAAGGAAATAGTGAGCAAGTACATAAAAGAAGTTAGGGAACCTGGTTTCAGAGT
 CCAAGAACTAATATCAGAGAGTTTAGGGTTGGAGAAAGATTACATAAAGAATGTCTAGGAGATCAAGGAC
 AACACATGGCTCTTAATTATTACCCTGAGTGCCCGGAGCCAGAGATGACATACGGGTTGCCGGGTCATACT
 GACCCTAATGCCCTTACCATCCTTCTCCAAGACTTGCAAGTATCTGGCCTTCAAATTTTTAAGGATGGTAA
 ATGGCTTGCTGTCAAACCTCAACCTGATGCTTTTGTCTAATAACATTGGTGATCAATTGCAGGCATTAAGTA
 ACGGTATATACAAGAGTGTATGGCACAGAGCAGTTGTGAACACAGATAAGCCAAGATTATCAGTAGCTTCA
 TTCCTCTGCCCCGCCAATGATGCGTTGATAAGCGCGCCAACACCTCTGACCGCCAACGGATCACCGGCTGT
 ATATAGAGACTATACGTATCCTGAGTACTACAAGACTTTCTGGAGTAGGAACCTTGGACCAAGAGCACTGCT
 TGGAGCTTTTTTAAAAACCAACCTAG

> Proteína ortóloga DMR6 de *Spinacia oleracea*

MANKILSTGIPYKTLPEYIRPENERPILSQVSDCENVPVIDLGAKDRTQTIHQVFNACKNYGFFQVINHG
 VSKELAEKMQKVAREFFDMSVEEKMKLYSDDPTKTLRLSTS FNVNKEEVHNWRDYLRHLHCWPLEQYVPEWP
 SNPPSFKEIVSKYIKEVRELGFRVQELISESLGLEKDYIKNVLDGQGHMALNYYPECPEPEPTYGLPGHT
 DPNALTILLQDLQVSLQIFKDGKWLAVKPQPD FVINIGDQLQALSNGIYKSVWHRAVNTDKPRLSVAS
 FLCPANDALISAPTPLTANGSPAVYRDYTYPEYYKTFWSRNLDQEHCLLELFKNQT*

Fig. 5**> CDS ortóloga DMR6 de *Cucumis sativus***

ATGAGCAGTGTGATGGAGATCCAACCTTTTGTGTTTCAGGGGGACGTCACGAGAAGTTGCCAGAGAAGTATGA
ACGGCCTGAATCGGATAGGCCGCGGCTGTCGGAGGTGTGTTGTTGGGACAAGGTTCCAATAATCGACTTGG
GATGCGAGGAGAGAGAGATGATTGTGAAGCAAGTGGAGGAGGCCCTGCAAGTCTTACGGCTTTTCCAGGTT
ATAAATCATGGTGTGAGGAAGGAATTGGTGGAGAAAGTGATAGAAGTTGGCAAGCAGTTCTTTGAGCTGCC
GATGGAGGAGAAGTTGAAATTTTATTCAGACGACCCCTTCCAAGACCGTCAGACTCTCCACAAGTTTCAATG
TCCGGAAAGAGCAATTTTCGCAACTGGAGGGATTATCTCAGACTCCATTGCTATCCTCTCTCCAACTACACC
CCCCATTGGCCCTCTAACCACCATCCTTCAGGGAAATAGTGAGTAGTATTGCAATGAAGTACGAAAAGT
TGGGTACAGAATAGAGGAGCTAATATCGGAGAGCTTGGGGCTGGAGAAGGAATACATAAGGAAGAAGTTGG
GTGAACAAGGTCAGCACATGGCTATAAATTATTATCCGCCATGTCCCAACCAGAACTCACCTACGGGCTC
CCTGGCCATACGGATCCCAACGCACTCACCATTCTCCTTCAGGATCTCCATGTGCGCCGGCTCCAAGTCTT
CAAAGATGGAAAGTGGCTAGCGGTCAACCCCCACCCCAATGCCTTTGTAATCAATATAGGCGACCAATTGC
AGGCATTGAGCAATGGGGTGTACAAGAGCGTTTGGCACCGAGCGGTGGTCAATGTTGATAAGCCCAGGCTG
TCGGTCGCTTCTTTTCTCTGCCCTTGTGATGACGCCCTCATTACTCCTGCACCGCTCCTCTCCAGCCTTC
CCCCATTTACAGACCTTTCACCTACGCCCAGTACTACAATACTTTTGGAGCAGAACTTGGATCAACAAC
ATTGCTTGGAACTATTTAAAACCACCTCCTTAA

> Proteína ortóloga DMR6 de *Cucumis sativus*

MSSVMEIQLLCSGGRHEKLPEKYERPESDRPRLSEVCCWDKVPILDLGCEEREMIVKQVEEACKSYGFFQV
INHGVRKELVEKVIEVGKQFFELPMEEKLKFYSDPSKTVRLSTSFNVRKEQFRNWRDYLRLHCYPLSNYT
PHWPSNPPSFREIVSSYCNEVRKVGYRIEELISESLGLEKEYIRKKLGEQGQHMAINYYPPCPQPELTYGL
PGHTDPNALTIILLQDLHVAGLQVLKDGKWLAVNPHFNAFVINIGDQLQALSNGVYKSVWHRAVVNVDPKRL
SVASFLCPDDALITPAPLLSQPSPIYRPFTYAQYYNTFWSRNLQQHCLLELFKNHPP*

Fig. 6

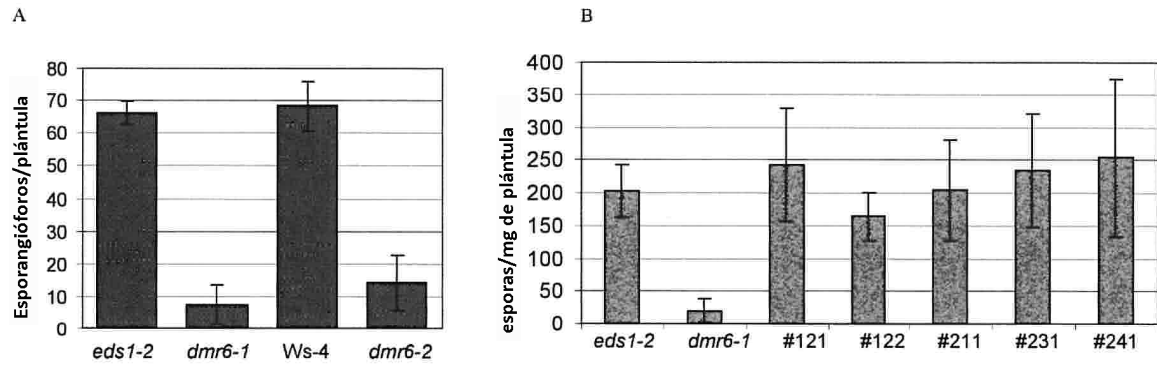


Fig. 7

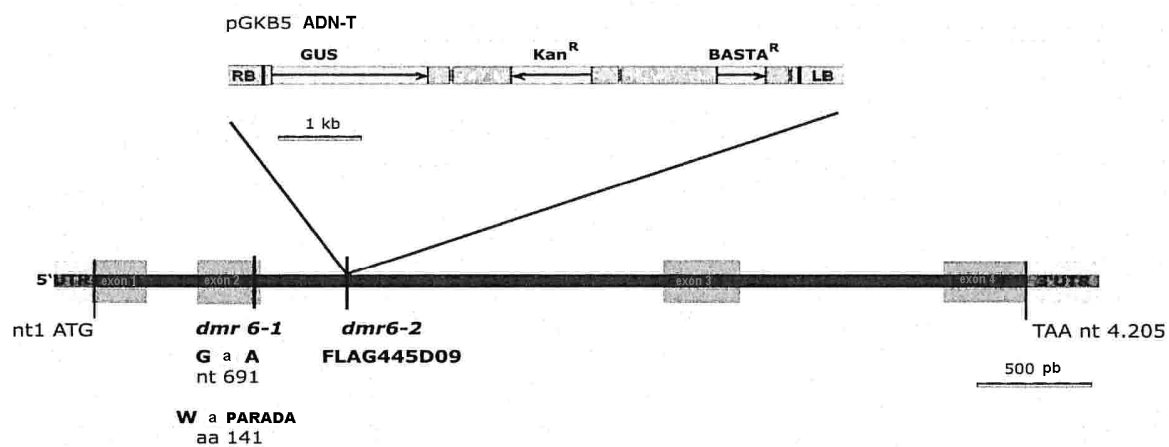


Fig. 8

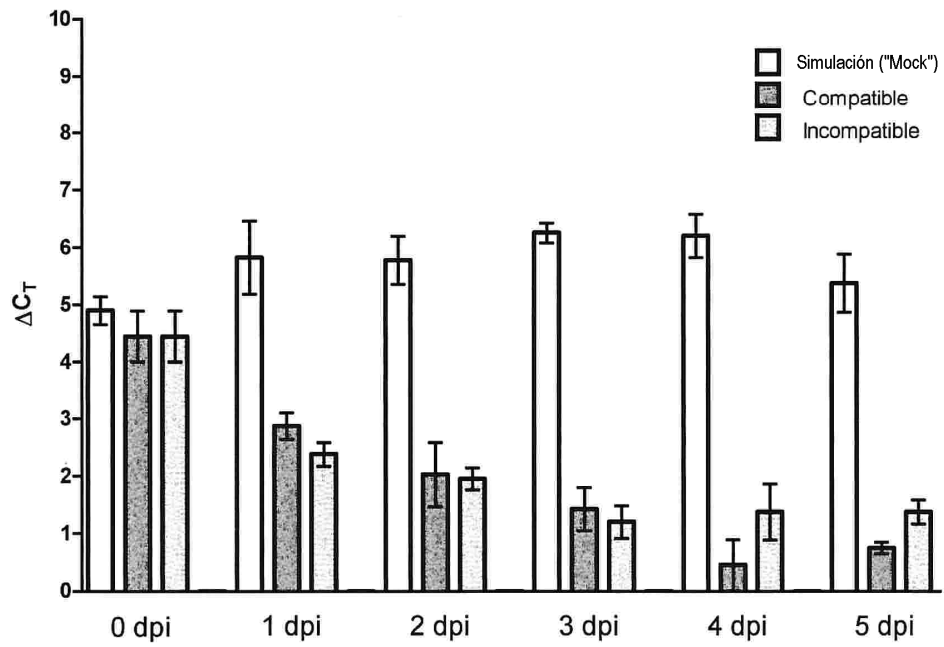


Fig. 9

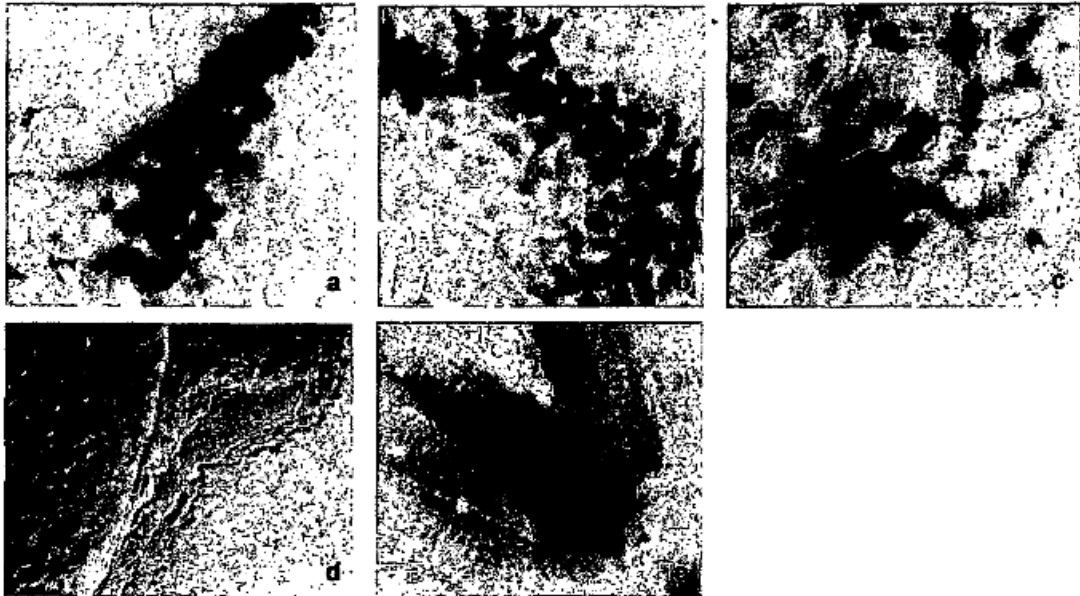


Fig. 10

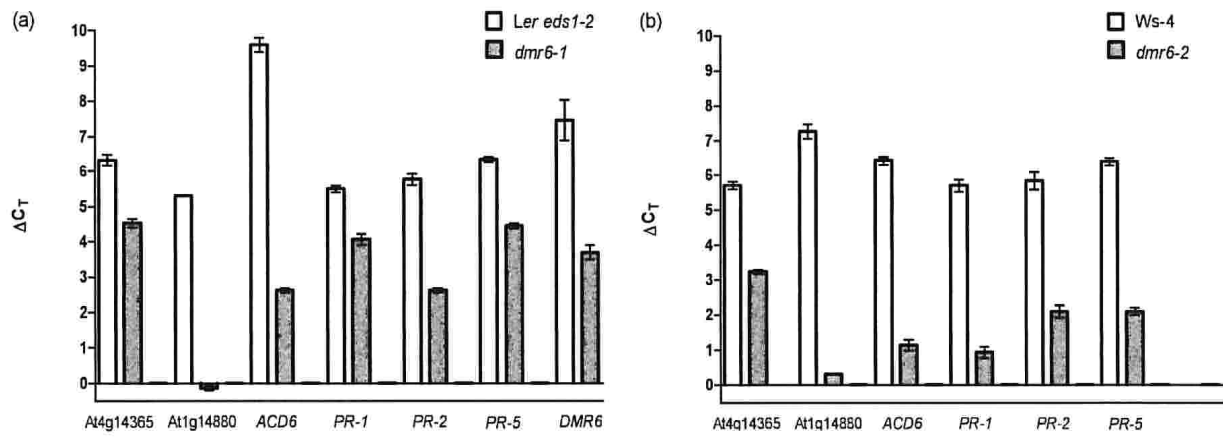


Fig. 11

cattttttctataaaatccaaactaaacatctctactttt
 ctttaaatctataaaccctaaacactttttttaaaactc
 octaaaaataatttcgtttttattgtaattttaaaact
 aatataaataatctctgttttaattaaagtatacagatt
 attcttagaggtaaatgcaagtattgtccgaaaaaaac
 taaaaagggaataaaatcaaacagatatttaattaga
 gttgaagtcoccaaaccatgatggccacacttccacata
 gctttatctctctgtccgccccaaaaataaccacatg
 ttgcatggaagatttttctaatatatacaactcacatt
 tttaacaggttgtatactgtattcattgttctgctgcca
 caaatttctgtctagtcttaataatttaactcaaaact
 aatataaaaaataacatgaataaatttttaacataaaa
 aatgctgttttaagacgaatctagataaattttttta
 tctaccaatttaactctatgttaaaataaaactgattt
 ttgaatatttgttttaactaaatctaaacaaaaataa
 aaaaaaaacccaaaattataaataattataaaataa
 atcaagaacccgaatgggcttttccaaacccaaaccc
 gatttagctagatcgttttgggttcgttttggatttgc
 tattgtaagttagatgtcacttatgataatgtttatc
 aaaaaataattattttattactgtcatcgttaattgt
 atctcatcogaagtaactattactgatgatgatgctg
 gatgacattatataatcaatgttttttgcctggaatt
 gctgaatcgaatcittgagcagtttaataatttcgta
 gtaattcttttttaataaataaagatggttagagtat
 agtaatgtgtgtagatttttcttatgaatttagatta
 cataccttaataagaataaataaagtttttgggtttc
 aagaaggaataaaattgagataaattagatataaaa
 ttgggttaagagattacaacatttaaccaaataaccc
 aacatttataaaacccacagctgtcctttcgaatac
 aacaattcaacttgaaaacataatcaattgagagtag
 aagtcgagccttccttccctttatctcttataccctt

Fig. 12**> CDS ortóloga DMR6 de *Solanum lycopersicum***

ATGGAAACCAAAGTTATTTCTAGCGGAATCAACCACTCTACTCTTCCTCAAAGTTACATCCG
 ACCCGAATCCGATAGACCACGTCTATCGGAAGTGGTCGATTGTGAAAATGTTCCAATAATTG
 ACTTAAGTTGCGGAGATCAAGCTCAAATAATTCGTCAAATTGGAGAAGCTTGTCAAACCTTAT
 GGTTCCTTCAGGTAATTAATCATGGTGTACCAAAGGAAGTTGTAGAGAAAATGCTAGGGGT
 AGCTGGGGAATTTTCAATTTACCAGTAGAAGAGAACTAAAATTATATTCAGATGATCCTT
 CAAAGACCATGAGATTATCAACAAGTTTTAATGTTAAAAAGGAGACAGTTCATAATTGGAGA
 GATTATCTCAGACTTCATTGTTATCCTCTAGAGAAGTATGCTCCTGAATGGCCTTCTAATCC
 ATCATCTTTCAGGGAAATCGTGAGCAGATATTGCAGGGAAATTCGTCAACTCGGATTTAGAT
 TAGAAGAAGCCATAGCAGAAAGCCTGGGGTTAGATAAAGAGTGTATAAAAGATGTATTGGGT
 GAACAAGGACAACATATGGCTATCAATTATTATCCTCCTTGTCCACAACCAGAACCTTACTTA
 TGGGCTTCCGGCCCATACTGATCCAAATTCATTACAATTCTTCTTCAAGACTTGCAAGTTG
 CGGCTCTTCAAGTTCTTAAAGATGGCAAATGGTTAGCTGTAAACCTCAACCTGACGCCTTT
 GTCATTAATCTTGGGGATCAATTGCAGGCAGTAAGTAACGGTAAGTACAGAAGTGTATGGCA
 TCGAGCTATTGTGAATTCAGATCAAGCTAGGATGTCAGTGGCTTCGTTTCTATGTCCGTGTG
 ATAGCGCGAAAATCAGTGCACCAAAGCTGCTGACAGAAGATGGATCTCCAGTGATTTATCAA
 GACTTTACGTATGCTGAGTATTACAACAAG
 TTCTGGAGCAGGAATTTGGACCAGCAACATTGTTTGGAACTTTTCAAGAATAA

> Proteína ortóloga DMR6 de *Solanum lycopersicum*

METKVISSGINHSTLPQSYIRPESDRPRLSEVVDENVPIIDLSCGDQAQIIRQIGEACQTY
 GFFQVINHGVPKEVVEKMLGVAGEFFNLPEEKLKLYSDDPSKTMRLSTS FNVKKETVHNWR
 DYLR LH CYPLEKYAPEWPSNPSSFREIVSRYCREIRQLGFRLEEAI AESLG LDK ECIK DVLG
 EQGQHMAINYYPPCPQPELTYGLPAHTDPNSLTILLQDLQVAGLQVLKDGKWLAVKPQPDF
 VINLGDQLQAVSNGKYRSVWHRAIVNSDQARMSVASFLCPCDSAKISAPKLLTEDGSPVIYQ
 DFTYAEYYNKFWSRNLDDQHCLLELFKN.

Fig. 13

> CDS ortóloga DMR6 de *Nicotiana benthamiana*

ATGGAAGCAAAAGTTCTTTCCAGCGGAATCCGCCACTCTACTATCCCTCAAAGTTACATCCG
CCCTCAATCCGATAGGCCGCGCCTTTCTGAAGTTGCTGATTGTGAAAACGTTCCAGTAGTTG
ATATAGGTTGCGGTGATAGAAACCTTATTGTTTCATCAAATTGGTGAAGCCTGTCGTCTTTAT
GGTTTTTCCAGGTAATTAATCATGGTGTACCAAAGAATTTAATAGACGAAATGCTAGAGAT
AGCTGGGGAATTTTTTAGGCTTCCAGTTGAAGAGAAGTTGAAATTGTACTCAGATGACCCAT
CGAAGACGATGAGATTGTGCTAGTGTAAATGTGAAAAGGAGAAGGTTCAACAATTGGAGA
GATTATCTCAGACTTCATTGTTATCCTCTTGAAAATTACGCTCCTGAATGGCCTTCCAATCC
TTCCTCTTTCAGGGAAATCGTGAGCAGATATTGCATGGAAGTTCGACAACCTCGGGTTCAGAT
TGCAGGAAGCCATAGCAGAGAGCCTAGGCTTAGAGAAAGAGTGTATAAAGGATGTATTGGGC
GAACAAGGTCAACACATGGCTATCAATTTCTATCCTCCTTGTCACAACCAGAACTCACTTA
TGGGCTGCCAGCACATACTGATCCAAATGCCCTTACAATTCTTCTTCAAGACTTAGAAGTAG
CTGGTCTTCAAGTTCTTAAAGATGGCGAATGGTTGGCCGTCAAGCCTCAACCAGATGCCTTT
GTCATTAATCTTGGTGATCAACTGCAGGCAGTGAGTAATGGGAGATACAAAAGCGTATGGCA
TCGAGCTATTGTAAATTCAGACAAAGCCAGGTTGTCAGTGGCTTCGTTCTTTGTCCGTGCG
ATAGCGCGAAAATCAGTGCTCCAAAGCTCCTCACTGAAGATGGATCTCCTGTCATTTATCAG
GACTTTACCTATGCTGAGTATTACAAAAGTTCTGGAGCAGGAATTTGGACCAGGAACATTG
TTTGGAACTTTTCAAGAACTAA

>Proteína ortóloga DMR6 de *Nicotiana benthamiana*

MEAKVLSSGIRHSTIPQSYIRPQSDRPRLSEVADCENVPVVDIGCGDRNLIVHQIGEACRLY
GFFQVINHGVPKNLIDEMLEIAGEFFRLPVEEKLKLYSDDPSKTMRLSTS FNVKKEKVNWR
DYLRLHCYPLENYAPEWPSNPSSFREIVSRYCMEVRQLGFRLQEAI AESLGLEKECIKDVLG
EQGQHMAINFYPPCPQPELTYGLPAHTDPNALTILLQDLEVAGLQVLKDGEWLAVKPQPD AF
VINLGDQLQAVSNGRYKSVWHRAIVNSDKARLSVASFLCPCDSAKISAPKLLTEDGSPVIYQ
DFTYAEYYKKFWSRNLDQEHCLLELFKN.

Fig. 14

