

KONSTRUKSI PETA GENETIK KELAPA SAWIT (*Elaeis guineensis* JACQ.) PPKS KETURUNAN SP540T DENGAN MENGGUNAKAN MARKA RESTRICTION SITE ASSOCIATED DNA (RAD)

GENETIC MAP CONSTRUCTION OF IOPRI'S OIL PALM (*Elaeis guineensis* JACQ.) MAPPING POPULATION DERIVED FROM SP540T BY USING RESTRICTION SITE ASSOCIATED DNA (RAD) MARKERS

Retno Diah Setiowati, Enrique Ritter¹, Sri Wening, Yurna Yenni, dan Edy Suprianto

Abstrak Konstruksi peta pautan kelapa sawit pada populasi keturunan SP540T dilakukan pada 2012 hingga 2015 yang merupakan kerjasama Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS), Indonesia dan Neiker, Spanyol. Sebagian kegiatan seperti isolasi DNA dilakukan di PPKS Marihat, sedangkan analisis RAD dilakukan di *Laboratorio Biotecnologia Vegetal*, Neiker, Spanyol. Peta genetik dikonstruksi menggunakan marka *Restriction Site Associated DNA* (RAD Tags). Sebanyak 532 fragmen RAD digunakan untuk membentuk 16 kelompok pautan atau *Linkage Group* (LG) yang mewakili 16 kromosom kelapa sawit. Peta genetik sepanjang 1269,9 *map unit* (mU) atau rata-rata 79,37 mU per kromosom yang terdiri atas fragmen-fragmen RAD yang dapat dicarikan homologinya dengan sekuen pada data base DNA untuk mengidentifikasi gen kandidat.

Peta genetik yang terbentuk menjadi dasar untuk konstruksi peta fungsional PPKS (IOPRImap) setelah diintegrasikan dengan data fenotipik. IOPRImap diharapkan dapat membantu memperpendek siklus seleksi pemuliaan kelapa sawit di PPKS dan membantu menentukan strategi pemuliaan kelapa sawit yang lebih presisi.

Kata kunci : kelapa sawit, RAD, peta pautan, SP540

Penulis yang tidak disertai dengan catatan kaki instansi adalah peneliti pada Pusat Penelitian Kelapa Sawit

Retno Diah Setiowati (✉)
Pusat Penelitian Kelapa Sawit
Jl. Brigjen Katamso No. 51 Medan, Indonesia
Email: retno.iopri@gmail.com

¹ NEIKER, Spanyol

Abstract Construction of genetic linkage on oil palm derived SP540T was established in 2012-2015 in collaboration with PPKS, Indonesia with Neiker, Spain. DNA isolation was conducted in Molecular Biology Laboratory in PPKS Marihat meanwhile RAD analysis was performed in *Laboratorio Biotecnologia Vegetal*, Neiker, Spain. Genetic map construction was carried out using *Restriction Site Associated DNA*. A total 532 RAD fragments were applied to configure 16 *Linkage Groups* (LGs) which represented 16 chromosomes of oil palm. The map spans in 1269.9 *map unit* (mU) or 79.37 mU per chromosome in average and consists of RAD fragments which could be blasted to the DNA data base to identify candidate genes.

Genetic map which had been formed is a foundation of constructing an IOPRI functional map (IOPRImap) when it is integrated with phenotypic data. The IOPRImap is expected to facilitate shortening oil palm selection cycle and defining a precise oil palm breeding strategy.

Keyword: oil palm, RAD, linkage map, SP540TT

PENDAHULUAN

Saat ini kelapa sawit merupakan salah satu penghasil utama minyak nabati dunia (Tranbarger *et al.*, 2011). Di sisi lain, pemuliaan kelapa sawit dengan cara konvensional menghadapi tantangan panjangnya siklus seleksi yang mencapai 15 tahun (Taepayoon *et al.*, 2015), dan luasnya area yang dibutuhkan untuk pengujian. Dalam kurun waktu 50 tahun (1960-2010)

perbaikan genetik telah berkontribusi dalam meningkatkan produksi kelapa sawit sebesar 60% (Durand-Gasselín *et al.*, 2010, Cochard *et al.*, 2015). Namun diperlukan strategi baru untuk percepatan perbaikan genetik dan memotong siklus seleksi kelapa sawit seperti aplikasi perangkat teknologi genomik (Barcelos *et al.*, 2015) maupun (*Marker Assisted Selection, MAS*) (Ihase *et al.*, 2014).

Peta genetik yang lengkap dapat menunjukkan posisi gen dalam satu kromosom. Dengan demikian, marka yang terdekat dengan posisi suatu gen dapat dijadikan sebagai marka untuk seleksi. Untuk itu diperlukan adanya peta genetik yang sesuai dengan populasi yang digunakan pada program pemuliaan kelapa sawit

SP540T merupakan salah satu tenera Djongo yang merupakan tetua dari pisifera AVROS yang saat ini banyak digunakan untuk produksi varietas kelapa sawit di Indonesia, Malaysia, *Papua New Guinea* (PNG), dan Kosta Rika (Corley dan Tinker, 2003). SP540T merupakan kelapa sawit tipe tenera yang diintroduksi dari Zaire ke Indonesia pada 1921 oleh Direktur Kebun Raya *Eala Botanic Gardens* di Kongo, dan ditanam di Kebun Sungai Pancur pada 1922. Individu SP540T memiliki daya gabung umum yang sangat baik, untuk karakter penting yang terkait dengan produksi, seperti produksi tandan buah segar (TBS) dan produksi minyak/ha. Keturunan langsung (*pure*) SP540T menjadi salah satu sumber utama dalam program pemuliaan kelapa sawit di Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS), antara lain pada program *family and individual palm selection* (FIPS) dan *reciprocal recurrent selection* (RRS) (Asmono *et al.*, 2000).

Restriction site associated DNA (RAD) merupakan marka genetik yang menggabungkan teknik sekuensing dan *molecular identifier* (MID) (Davey *et al.*, 2013) dengan memanfaatkan situs restriksi yang ada pada makhluk hidup. Miller . (2007) menyatakan bahwa hampir semua organisme memiliki sekuens DNA polimorfis yang dipisahkan oleh situs-situs restriksi. Fragmen pendek (*tag*) yang diperoleh dari pemotongan DNA genomik tersebut ditapis untuk melihat adanya variasi genetik. Hibridisasi *RADtags* menggunakan *microarrays* menghasilkan ribuan bahkan ratusan ribu fragmen DNA dalam waktu yang relatif singkat dan menjadikan teknik ini sangat efektif untuk memproduksi sejumlah besar marka untuk

pemetaan. Berkembangnya teknologi *next generation sequencing* menjadikan teknik RAD semakin murah sehingga pemanfaatannya berkembang tidak hanya untuk *genotyping*, tapi juga mengintegrasikan *short read sequencing* ke dalam *RAD genotyping* (Baird *et al.*, 2008). Teknik ini pernah digunakan Takahashi *et al.* (2014), untuk melihat hubungan phylogenetic dari berbagai spesies *Carabus sp* di dalam satu taksa. Chutimanitsakun *et al.* (2011) menggunakan *RADtags* berbasis Illumina sequence untuk membangun peta genetik pada tanaman barley.

Penelitian ini bertujuan membentuk peta pautan genetik kelapa sawit pada populasi pemuliaan turunan SP540T milik PPKS dengan memanfaatkan karakteristik teknik RAD.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Material tanaman sampel merupakan tetua dan keturunan keturunan SP540T. Data fenotipik yang diamati mencakup data vegetatif dan data kualitas tandan. Data vegetatif diambil sejak tanaman berumur empat tahun dengan frekuensi pengamatan dua kali dalam setahun hingga tanaman berumur 10 tahun. Sedangkan data kualitas tandan diambil sejak tanaman mulai menghasilkan hingga tanaman berumur 10 tahun.

Sampel DNA diambil dari tetua jantan dan *bulk* dari 5 *siblings* induk betina untuk mewakili genotipe induk betina serta 71 individu yang berasal dari nomor percobaan MA20S di Kebun Marihat PTPN IV, Sumatra Utara yang merupakan keturunan dari persilangan DxP: BO5407D (keturunan PA 131D *self*) x BO 411P (keturunan RS3Tself dari populasi SP540T). Penyiapan sampel DNA dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler PPKS Marihat dan persiapan sampel RAD dilakukan di *Laboratorio Biotecnologia Neiker*, Vitoria-Gasteiz, Spanyol.

Konstruksi Peta Pautan

RADtags yang digunakan merupakan teknik molekuler yang dimodifikasi dari marka AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*, Vos *et al.*, 1995). Prosedur teknis dan analisis RAD yang digunakan mengikuti protokol Baird *et al.* (2008)

dengan modifikasi pada penggunaan enzim restriksi yang sensitif terhadap metilasi, dalam hal ini AclI dan BsiWI. Sampel DNA baik dari keturunan maupun tetua dipotong dengan kedua enzim restriksi, kemudian diligasi dengan adaptor. Untuk mendapatkan fragmen yang diinginkan, DNA yang telah direstriksi dan diligasi ini dielektroforesis pada gel agarosa. Selanjutnya, sampel DNA dipre-amplifikasi menggunakan primer yang telah ditandai untuk memudahkan penelusuran asal sampel. Setelah itu, setiap sampel diencerkan untuk mendapatkan jumlah dan konsentrasi yang seragam. Akhirnya sampel dikirim ke *Centro de Investigación Médica Aplicada* (CIMA), Pamplona, Spanyol untuk diseku dengan platform ION Torrent (*chip* 1GB). Variasi alel setiap genotipe keturunan dari sekuen marka RAD yang diperoleh, ditentukan dan dipisah-pisahkan menggunakan *in-house developed software* (Ritter dan Salamini, 1996).

Analisis Data

Peta pautan dibentuk dari marka RAD menggunakan MAPRF *software* (Ritter dan Salamini, 1996).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis RADtags

Pemotongan DNA genomik menggunakan dua enzim restriksi yang sensitif metilasi menghasilkan jutaan fragmen yang panjangnya sangat bervariasi. Fragmen-fragmen tersebut diseleksi berdasarkan adanya sekuen MIDS di kedua ujungnya yang kemudian dipisah-pisahkan berdasarkan genotipenya sesuai kombinasi MIDS. Selanjutnya genotipe yang memiliki jumlah *reads* tertinggi dijadikan *reference fragment*

Seleksi fragmen dengan penapisan ukuran 150-300 bp menggunakan platform ION Torrent, masih terlalu besar untuk kapasitas chip 1 Gb sehingga digunakan ION Proton chip yang dapat menampung 10 Gb. Dengan demikian diperoleh 100 juta *reads*. Meskipun demikian masih terdapat banyak *low reads numbers per genotyping* yang menghasilkan ketidaktepatan dalam penyejajaran antara *restriction fragments* terhadap *genotypingnya*. Untuk itu dilakukan penapisan berlapis dengan cara menetapkan *minimum reads* untuk *restriction*

fragments per genotyping sehingga hanya *restriction fragments* yang memiliki *reads* tinggi yang dianalisis. Setelah proses penapisan, diperoleh 2083 sekuen *reference fragments* yang mewakili 3280 lokus dan 1701 di antaranya monomorfis.

RADtags yang polimorfis diskor berdasarkan segregasinya pada setiap genotipe. Hanya marka yang memiliki skor alel pada kedua tetua dan genotipe keturunan yang digunakan dalam pemetaan. Selain itu, alel memiliki rasio muncul-absen kurang dari 0,5 dan di atas 2 juga tidak digunakan dalam analisis. Dari hasil seleksi ini diperoleh 751 *RADtags* yang memenuhi kriteria dan digunakan untuk membangun peta pautan menggunakan *software* MAPRF (Ritter dan Salamini, 1996).

Peta Pautan

Dari 751 *RADtags*, sebanyak 532 marka RAD berhasil dipetakan. Peta pautan menggunakan marka RAD ini membentuk 16 kelompok pautan, *Linkage Group* (LG) dengan panjang total 1269.9 map unit (mU) atau rata-rata 79.37 mU per LG. Satuan peta dinyatakan dengan *map unit* dimana 1 mU setara dengan 500.000 bp.

Peta pautan genetik, disebut dengan IOPRIMap, yang diperoleh memiliki susunan LG yang mirip dengan peta yang dibangun oleh MPOB, namun sangat berbeda dengan peta yang dibangun dalam Konsorsium *Oil Palm Genome Project* (OPGP). Pada umumnya, peta pautan yang terbentuk cenderung mengikuti peta yang sudah ada sebelumnya. Perbedaan ini dapat dipahami mengingat IOPRIMap diawali dengan cara membandingkan sekuen RAD terhadap *whole oil palm genome* milik MPOB. Selanjutnya peta ini dijadikan acuan dalam membentuk peta pautan menggunakan *software* MAPRF. Perbedaan penomoran LG merupakan hal yang mungkin terjadi akibat perbedaan sistem *alignment* yang digunakan pada saat pembentukan peta genetik. Dengan adanya peta sekuen baik dari MPOB maupun OPGP, pemetaan marka-marka seperti EST, cDNA, dan TDF menjadi lebih mudah.

Sebaran marka RAD pada peta IOPRIMap cenderung mengelompok pada ujung-ujung kromosom, tidak seperti DNA netral yang biasanya mengelompok pada centromer atau pada *repetitive non-coding regions* lainnya (Brugmans *et al.*, 2002).

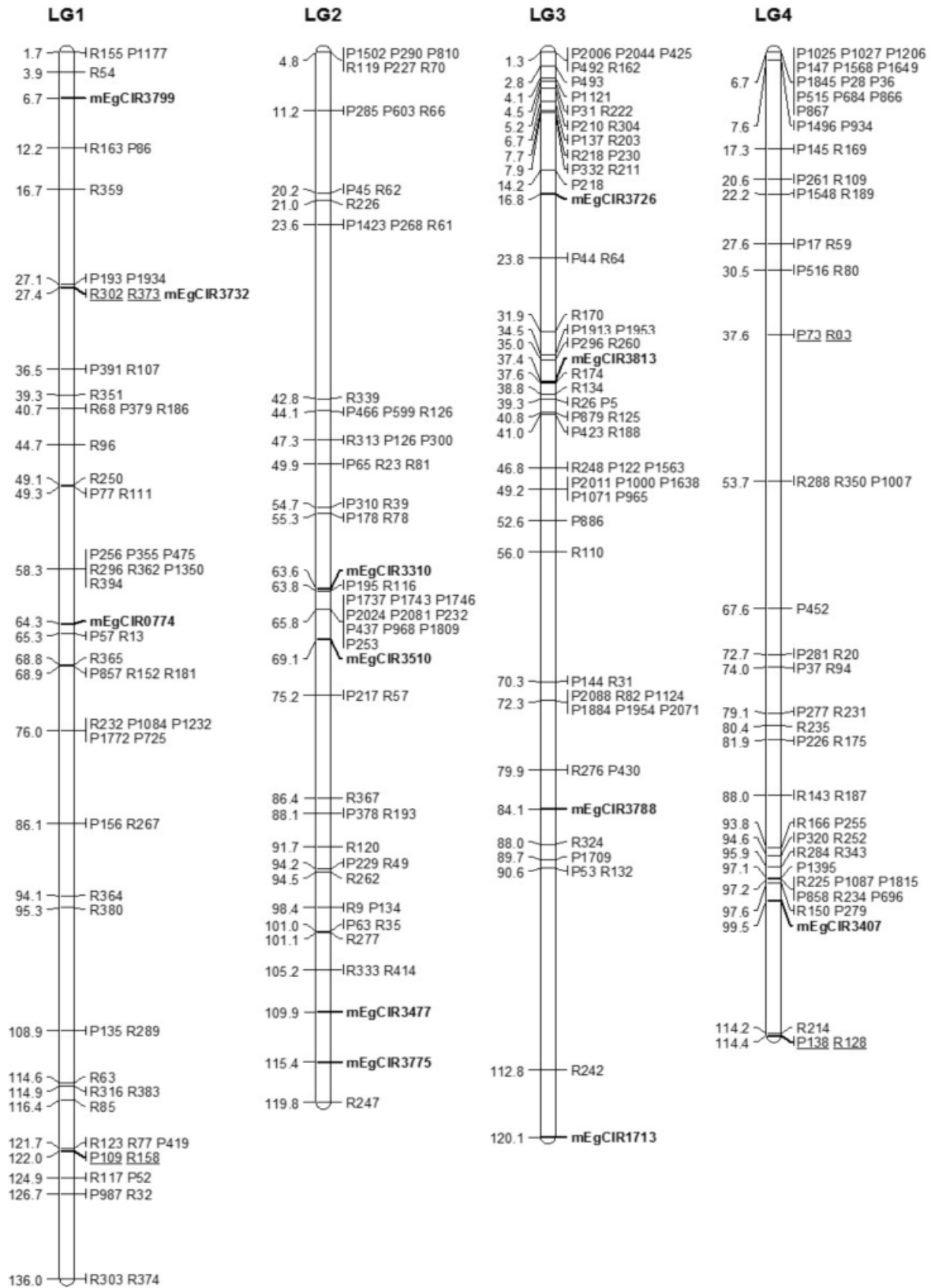
Sementara itu, ditemukan interval yang cukup jauh pada LG 5 dan LG 9 yang mencapai 31,2 dan 30,5 mU. Kondisi ini mengindikasikan adanya zona yang lebih homozigot atau dengan kata lain zona rekombinasi tidak tersebar secara merata. Ma *et al.* (2001) dan Drouaud *et al.* (2006) menyebutnya sebagai *hot* atau *cold spot*, yaitu daerah yang lebih atau kurang *susceptible* terhadap rekombinasi.

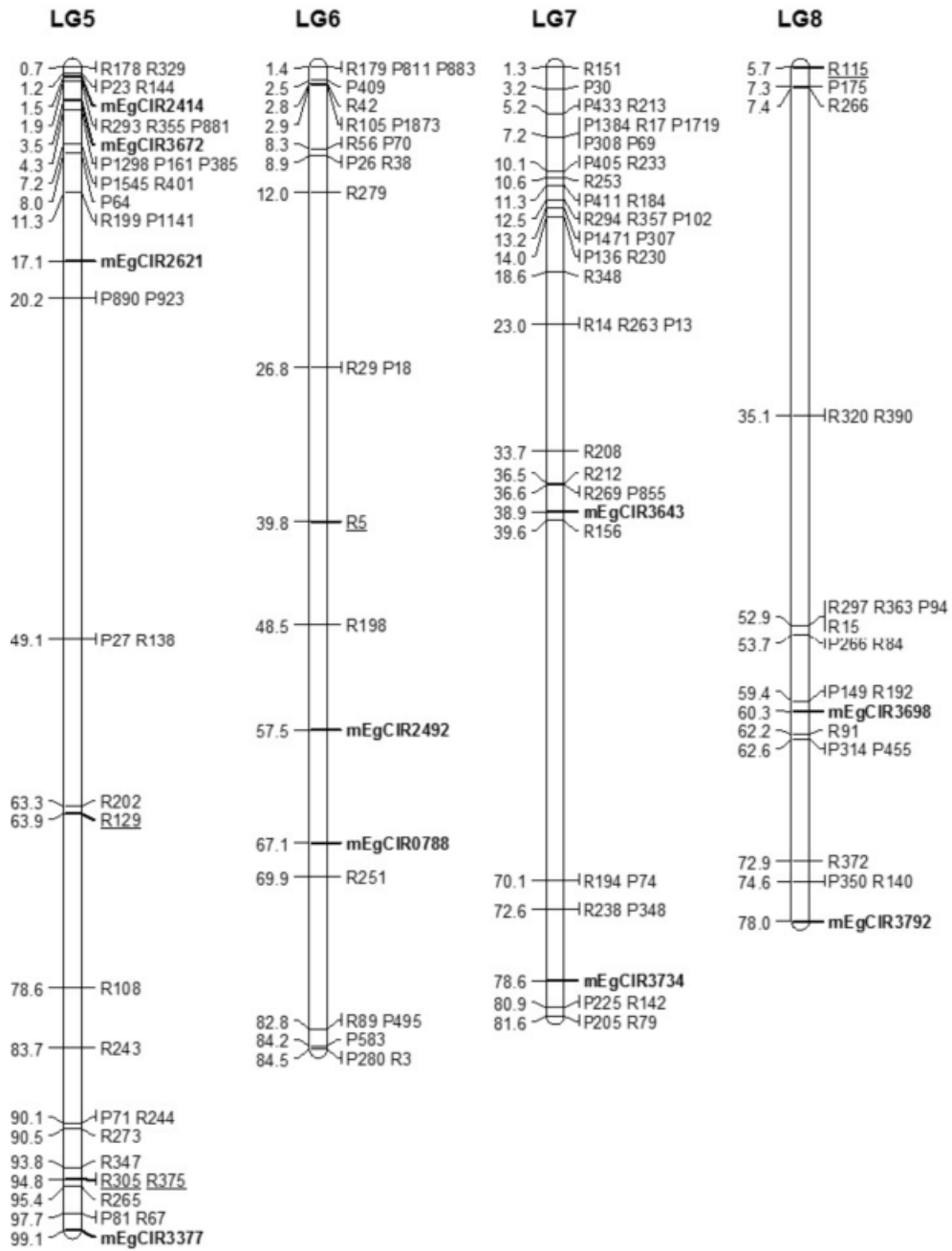
Salah satu kelebihan marka RAD adalah bahwa sekuennya telah diketahui sehingga dapat di-*blast* terhadap *database* genom tanaman untuk mencari homologinya. Terlebih lagi dalam penelitian ini digunakan, *methylation sensitive restriction enzymes* sehingga targetnya adalah sekuen gen. Sehingga bila hasil blast suatu marka RAD memiliki homologi dengan gen tertentu, dapat dikatakan bahwa marka tersebut merupakan kandidat gen (*Gene candidates*, GCs). GCs ini dapat berupa gen, gen struktural, representing genes atau gen dari jalur biokimia tertentu yang mempengaruhi suatu karakter (Vinod *et al.*, 2006). Manfaat lain dari marka RAD yang memiliki homologi adalah bahwa marka tersebut dapat digunakan dalam analisis ko-lokasi antara QTL dan RAD marker. Adanya beberapa marka RAD yang secara bersama-sama berada dalam lokus yang sama dan memiliki homologi serupa, bisa jadi merupakan gen yang berbeda dengan fungsi yang sama. Namun tidak tertutup kemungkinan bahwa marka tersebut sebenarnya merupakan bagian dari gen yang sama yang terpotong pada saat proses awal penyiapan fragmen RAD (restriksi).

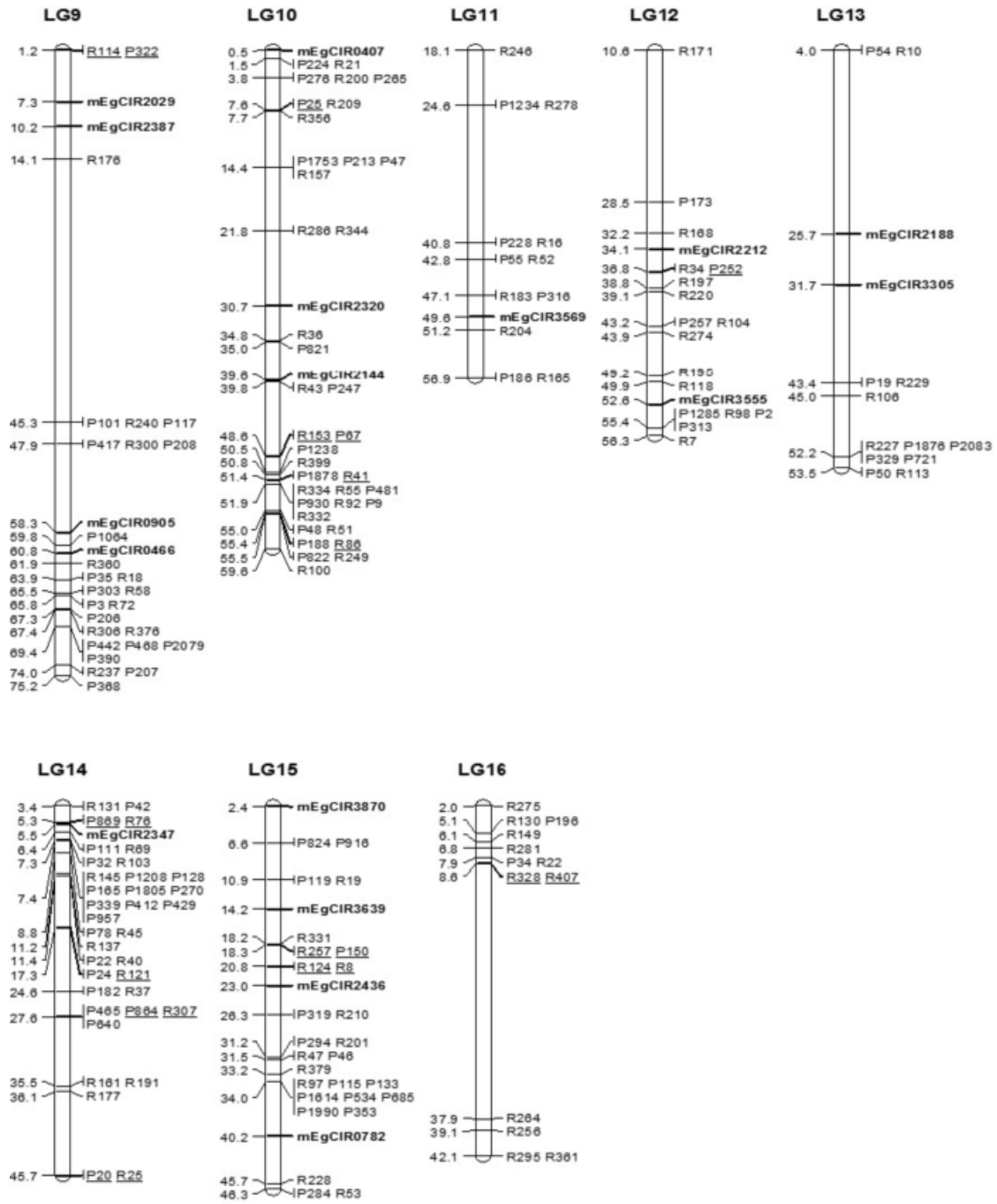
RAD Annotation

Reference fragments yang diperoleh pada tahap awal seleksi fragmen merupakan sekumpulan fragmen (*set of RAD markers*) yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi *coding sequences* berdasarkan homologi. Hasil Blast RAD *reference fragments* terhadap *non redundant cDNA library database* OPGP project, untuk *E. guineensis* dan *database* Bourgis *et al.* (2011) serta Tranbarger *et al.* (2011) dan juga menggunakan *open software* Blast2GO® (Blast2Go.com) dengan menetapkan batas minimum *e-value* 1.0E-50 menghasilkan 33 marka RAD yang diketahui memiliki homologi, 21 di antaranya yang terpetakan (Lampiran). Angka ini sangat sedikit bila dibandingkan dengan jumlah *reference fragment* yang diperoleh. Tampaknya penggunaan enzim yang sensitif terhadap metilasi belum menjamin bahwa fragmen yang diperoleh merupakan *coding region*. Selain itu, besarnya variasi dalam hal jumlah dan panjang *reads* membutuhkan kondisi PCR terutama dalam hal suhu *annealing* yang lebih spesifik.

Hasil *blast* pada berbagai database menunjukkan bahwa sebagian besar marka yang memiliki homologi, homologinya banyak terkait dengan regulasi aktivitas sel dan metabolit sekunder. Marka-marka tersebut dapat dikembangkan sebagai gen kandidat (*Candidate Genes*, CGs). CGs bisa saja berupa gen struktural, sekuen yang mencerminkan gen, atau gen dari jalur biokimia yang mempengaruhi ekspresi dari suatu karakter (Vinod *et al.*, 2006).







Kete:

Legends: LG: linkage Group. Map distance is conversion from map sequence distance in which 1 map unit is equal with 500.000.000 bp

Gambar 1. Peta pautan genetik kelapa sawit menggunakan marka RAD

Figure 1. Oil palm linkage map using RAD markers

KESIMPULAN

Teknik RAD efektif dalam menghasilkan marka molekuler dalam jumlah besar dan dalam waktu yang singkat. Peta genetik IOPRIMap telah berhasil dibangun dengan memanfaatkan marka RAD dengan panjang total 1.269,9 map unit. Penelitian lanjutan berupa analisis lokus yang terkait dengan sifat-sifat kuantitatif (*QTL analysis*) dapat dilakukan dengan memanfaatkan data fenotipik yang tersedia dalam populasi pemetaan ini. Peta genetik IOPRIMap diharapkan dapat menjadi referensi dalam mendukung program pemuliaan kelapa sawit di PPKS.

DAFTAR PUSTAKA

- Asmono, D., E. Suprianto, D.P. Komalaningtyas, dan N. Fauzy. 2000. Kontribusi plasma nutfah SP540T dalam menunjang perkembangan industri kelapa sawit di Indonesia. Paper Seminar PERIPI.
- Baird, N.A., P.D. Etter, T.S. Atwood, M.C. Currey, A.L. Shiver, Z.A. Lewis, E.U. Selker, W.A. Cresco, and E.A. Johnson. 2008. Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers. *PLoS one*, 3(10), e3376.
- Barcelos, E., S.D.A. Rios, R.N.V. Cunha, R. Lopes, S.Y. Motoike, E. Babychuk, A. Skiryicz, and S. Kushnir. 2015. Oil palm natural diversity and the potential for yield improvement. *Frontiers in plant science*, 6, 190.
- Bourgis, F., A. Kilaru, X. Cao, G.F. Ngando-Ebongue, N. Drira, J.B. Ohlrogge, and V. Arondel. 2011. Comparative transcriptome and metabolite analysis of oil palm and date palm mesocarp that differ dramatically in carbon partitioning. *Proc Natl Acad Sci USA*. 108(30):12527-32.
- Brugmans, B., F. Asun, C.W. Bachem, V.O. Hans, H.J. Van Eck, and G.F. Visser. 2002. A novel method for the construction of genome wide transcriptome maps. *The Plant Journal* 31 (2): 211–222.
- Cochard, B., C. Carrasco-Lacombe, V. Ponies, J.F. Dufayard, E. Suryana, A. Omore, T. Durrand-Gasselien, and S. Tisme, S. 2015. *Pedigree-based linkage map in two genetic groups of oil palm*. *Tree Genetics & Genomes* 11:68.
- Corley, R.H.V. and P.B. Tinker. 2003. *The oil palm*, 4th Edition. Blackwell Science Ltd. Pg. 36
- Chutimanitsakun, Y., R.W. Nipper, A. Cuesta-Marcos, L. Cistué, A. Corey, T. Filichkina, E.A. Johnson, and P.M. Hayes. 2011. Construction and application for QTL analysis of a restriction site associated DNA (RAD) linkage map in barley. *BMC genomics*, 12(1), 4.
- Davey, J.W., T. Cezard, P. Fuentes-Utrilla, C. Eland, K. Gharbi, and M.L. Blaxter. 2013. Special features of RAD sequencing data: implications for genotyping. *Molecular Ecology*, 22(11), 3151-3164.
- Drouaud, J., C. Camilleri, P.Y. Bourguignon, A. Canaguier, A. Bérard, D. Vezon, S. Giancola, D. Brunel, V. Colot, B. Prum, C. Mezard, and H. Quesneville. 2006. Variation in crossing-over rates across chromosome 4 of *Arabidopsis thaliana* reveals the presence of meiotic recombination “hot spots”. *Genome research* 16(1), 106-114.
- Duran-Gasselien, T., L. Blangy, C. Picasso, H. Franqueville, F. Breton, P. Amblard, B. Cochard, C. Louise, and B. Nouy. 2010. Sélection du palmier à huile pour une huile de palme durable et responsabilité sociale. *Oil Crops Gras Lipides* 17:385-392
- Ihase, L.O., R. Horn, G.O. Anoliefo, C.R. Eke, C.O. Okwuagwu, and O. Asemota. 2014. Assessment of an oil palm population from Nigerian Institute for Oil Palm Research (NIFOR) for simple sequence repeat (SSR) marker application. *African Journal of Biotechnology*, 13(14)
- Ma, X.F., K. Ross, and J.P. Gustafson. 2001. Physical mapping of restriction fragment length polymorphism (RFLP) markers in homologous groups 1 and 3 chromosomes of wheat by in situ hybridization. *Genome* 44: 401–412.
- Miller, C.R., J. P. Dunham, A. Amores, W.A. Cresko, and E.A. Johnson. 2007. Rapid and cost-effective polymorphism identification and genotyping using restriction site associated DNA (RAD) markers. *Genome Research* 17:240–248.

- Vinod, M.S., N. Sharma, K. Manjunath, A. Kanbar, N.B. Prakash, and H.E. Shashidhar. 2006. Candidate genes for drought tolerance and improved productivity in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Biosciences*, 31(1), 69–74
- Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T.V. de Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper, and M. Zabeau. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23(21) 4407-4414
- Ritter, E. and F. Salamini. 1996. The calculation of recombination frequencies in crosses of allogamous plant species with application to linkage mapping. *Genet. Res.* 67: 55-65.
- Taepayoon, P., P. Tanya, S.H. Lee, and P. Srinives. 2015. Genetic background of three commercial oil palm breeding populations in Thailand revealed by SSR markers. *Australian Journal of Crop Science*, 9(4), 281.
- Takahashi, T., N. Nagata, and T. Sota. 2014. Application of RAD-based phylogenetics to complex relationships among variously related taxa in a species flock. *Molecular phylogenetics and evolution*, 80, 137-144
- Tranbarger, T.J., S. Dussert, T. Joët, X. Argout, M. Summo, A. Champion, D. Cross, A. Omore, B. Nouy, and F. Morcillo. 2011. Regulatory mechanisms underlying oil palm fruit mesocarp maturation, ripening, and functional specialization in lipid and carotenoid metabolism. *Plant physiology*, 156(2), 564–84.

Lampiran: Daftar kandidat gen yang memiliki homologi tinggi dari marka RAD.

Appendix: List of high homology candidate genes from RAD markers.

No	LG	Database	Marka RAD	Sim	E-Value	Fungsi Gen
1	UM	LD	P10	99,3	1.00E-69	MATE effluxfamilyprotein
2	UM	LD	P100	99,1	8.00E-51	Putative Protein ASPARTIC PROTEASE IN GUARD CELL 1 OSc
3	1	LD	P109	97,2	7.00E-59	Putative Disease resistance protein At4g27190 OSc
4	UM	LD	P1296	100	1.00E-53	Putative Protein ASPARTIC PROTEASE IN GUARD CELL 1 OSc
5	4	LD	P138	91,9	5.00E-75	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g014450 GP
6	15	LD	P150	98,9	2.00E-85	Probable indole-3-acetic acid-amidosynthetase GH3,8 (EC 6,3,2,-) Auxin-responsive GH3-like protein 8
7	UM	LD	P166	98,4	3.00E-56	hypotheticalprotein ARALYDRAFT_902846 GP
8	UM	LD	P1892	98,4	3.00E-56	hypotheticalprotein ARALYDRAFT_902846 GP
9	UM	LD	P1932	98,4	3.00E-56	hypotheticalprotein ARALYDRAFT_902846 GP
10	14	LD/B2G	P20	99,4	6.00E-74	Predicted protein-putative GP
11	10	LD/B2G	P25	89,9	6.00E-62	hypotheticalprotein SORBIDRAFT_06g027595
12	12	LD	P252	100	4.00E-65	Cytochrome-C oxidases
13	UM	LD	P322	98,8	6.00E-80	Uncharacterized protein LOC100261750- putative GP
14	10	LD	P67	99,3	6.00E-67	Uncharacterized protein Osc
15	UM	LD	P72	100	6.00E-59	Putative G-typelectin S-receptor-like serine/ threonine-protein kinase At5g35370 Os
16	4	LD	P73	99,3	2.00E-65	Pathogenesis-related thaumatin superfamily protein
17	14	LD	P864	100	1.00E-53	Putative Protein ASPARTIC PROTEASE IN GUARD CELL 1 OSc
18	14	LD	P869	98,4	3.00E-56	Hypothetical proteinARALYDRAFT_902846 GP
19	8	LD	R114	100	3.00E-72	Uncharacterized protein Osc
20	8	LD	R115	93,3	4.00E-90	Putative Wall-associated receptor kinase 2 OSc
21	14	LD	R121	84,7	8.00E-55	encodes a member of the ERF (ethylene response factor)
22	15	LD	R124	97,6	6.00E-53	Putative G-type lectin S-receptor-like serine/ threonine-protein kinase At5g35370 Os
23	4	B2G	R128	98,4	3.00E-56	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g014450 GP
24	5	LD	R129	99,1	2.00E-113	BSD domain-containing protein
25	10	LD	R153	98,7	4.00E-69	Putative GP
26	1	LD	R158	99,3	6.00E-66	Putative Disease resistance protein At4g27190 OSc
27	UM	LD	R173	98,8	3.00E-77	Unknown protein
28	14	LD	R25	100	1.00E-76	predictedprotein - putative GP
29	15	LD	R257	99,5	1.00E-88	Probable indole-3-acetic acid-amidosynthetase GH3, 8 (EC 6,3,2,-) L Auxin-responsive GH3-like protein 8
30	1	LD	R158	99,3	6.00E-66	Putative Disease resistance protein At4g27190 OSc
31	UM	LD	R173	98,8	3.00E-77	Unknown protein 8 (EC 6,3,2,) L Auxin-responsive GH3-like protein 8
32	UM	LD	R287	100	2.00E-60	oxysterol-binding protein-related protein 2A-like - putative GP
33	UM	LD	R302	100	6.00E-76	NADH dehydrogenase - putative GP

Keterangan:

UM: *Unmapped*; LD : *Local Database*; B2G: *Blast2Go*; Sim: *Similarity*

Legends:

UM: *Unmapped* ; LD : *Local Database*; B2G: *Blast2Go*; Sim: *Similarity*