



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.04.16

(21) Номер заявки
201891906

(22) Дата подачи заявки
2016.02.22

(51) Int. Cl. **A01H 5/06** (2006.01)
C07K 14/415 (2006.01)
C12N 15/82 (2006.01)

(54) ГЕНЫ УСТОЙЧИВОСТИ К НАСТОЯЩЕЙ МУЧНИСТОЙ РОСЕ У МОРКОВИ

(43) **2019.02.28**

(86) **PCT/EP2016/053667**

(87) **WO 2017/144077 2017.08.31**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
БЕЙО ЗАДЕН Б.В. (NL)

(72) Изобретатель:
**Харсма Адриана Дорин, Зван Вилем
Ари, Нейкамп Юрген Франсискус,
Вейнкер Якобус Петрус Мартинус,
Деккер Петер Арнольдус, Крон
Лаурентиус Петрус Николаас
Мартинус, Схрейвер Альбертус
Йоханнес Мария (NL)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) GOWDA R. VEERE ET AL.: "Resistance Source for Powdery Mildew in Carrot", PKV RESEARCH JOURNAL, PUNJABRAO KRISHI VIDYAPEETH, AKOLA, IN, vol. 22, no. 1, 1 January 1998 (1998-01-01), pages 55-56, XP009191509, ISSN: 0378-813X abstract page 55, column 2, lines 28-30

JP-A-2011015648

PARSONS JOSHUA ET AL.: "Meloidogyne incognitanematode resistance QTL in carrot", MOLECULAR BREEDING: NEW STRATEGIES IN PLANT IMPROVEMENT, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, NL, vol. 35, no. 5, 21 April 2015 (2015-04-21), pages 1-11, XP035486252, ISSN: 1380-3743, DOI: 10.1007/S11032-015-0309-2 [retrieved on 2015-04-21] abstract

PABLO F. CAVAGNARO ET AL.: "A gene-derived SNP-based high resolution linkage map of carrot including the location of QTL conditioning root and leaf anthocyanin pigmentation", BMC GENOMICS, BIOMED CENTRAL LTD, LONDON, UK, vol. 15, no. 1, 16 December 2014 (2014-12-16), page 1118, XP021206689, ISSN: 1471-2164, DOI: 10.1186/1471-2164-15-1118 figure 2

WO-A2-2012012480

WO-A1-8607379

(57) Изобретение относится к настоящей мучнистой росе и особенно к настоящей мучнистой росе, вызываемой фитопатогеном *Erysiphe heraclei*, устойчивым растениям моркови или растениям *Daucus carota*, причем устойчивость к настоящей мучнистой росе обеспечивается одним или двумя доминантными генами устойчивости к настоящей мучнистой росе. Изобретение, кроме того, относится к молекулярным маркерам, генетически связанным с генами, обеспечивающими устойчивость к настоящей мучнистой росе и особенно к настоящей мучнистой росе, вызываемой фитопатогеном *Erysiphe heraclei*, и их применению для идентификации растений моркови или растений *Daucus carota*, являющихся устойчивыми к настоящей мучнистой росе и особенно к настоящей мучнистой росе, вызываемой фитопатогеном *Erysiphe heraclei*. Изобретение также относится к семенам, частям растений, пыльце, яйцеклеткам, каллюсу, суспензионной культуре, соматическим эмбрионам и съедобным частям растений настоящего изобретения.

Изобретение относится к настоящей мучнистой росе и особенно к настоящей мучнистой росе, вызываемой фитопатогеном *Erysiphe heraclei*, устойчивым растениям моркови или растениям *Daucus carota*, причем устойчивость к настоящей мучнистой росе обеспечивается одним или двумя доминантными генами устойчивости к настоящей мучнистой росе. Изобретение, кроме того, относится к молекулярным маркерам, генетически связанным с генами, обеспечивающими устойчивость к настоящей мучнистой росе и особенно к настоящей мучнистой росе, вызываемой фитопатогеном *Erysiphe heraclei*, и их применению для идентификации растений моркови или растений *Daucus carota*, являющихся устойчивыми к настоящей мучнистой росе и особенно к настоящей мучнистой росе, вызываемой фитопатогеном *Erysiphe heraclei*. Изобретение также относится к семенам, частям растений и особенно съедобным частям растений настоящего изобретения.

Морковь или *Daucus carota* является выращиваемым растением из семейства *Umbelliferae* (или *Ariaceae*), которое распространено во многих частях мира. Семейство *Umbelliferae* состоит из множества видов, которые в целом представляют собой ароматические растения с полыми стеблями; оно находится среди 20 крупнейших семейств цветущих растений. Известны наряду с родом *Daucus* другие выращиваемые растения; например тмин, сельдерей, кориандр, укроп, фенхель, петрушка и пастернак. В общей сложности *Umbelliferae* охватывает более 3500 видов.

Дикая морковь, *Daucus carota* L., является эндемичной в значительной части мира и имеет белый стержневой корень, который является съедобным, находясь на ювенильной стадии, но становится древесным после длительного роста. Выращиваемая морковь *Daucus carota* и особенно *Daucus carota* ssp. *sativus* является корнеплодом, обычно оранжевым, но известны также пурпурные, красные, желтые и белые сорта.

Как правило, в более умеренных климатических зонах *Daucus carota* представляет собой двухлетнее растение, которое имеет период вегетативного роста в первый год после посева; после перезимовки растение расцветет на второй год выращивания. В тропических и субтропических районах морковь имеет годовой жизненный цикл; переход с вегетативной стадии на стадию размножения происходит без яровизации. Кроме того, несколько диких видов также имеют годовой жизненный цикл.

Листья укладываются в спиральную структуру. Когда цветонос удлиняется, кончик стебля становится заостренным и становится сильно разветвленным соцветием. Длина стебля может достигать 60-200 см.

Цветки размещаются в зонтиках с белыми, иногда светло-зелеными или желтыми цветоножками; индивидуальные цветки держатся на цветоножках. Первый зонтик присутствует на конце основного стебля, дополнительные зонтики будут расти из этого основного ответвления. Каждый цветок имеет пять лепестков, пять тычинок и одно центральное рыльце. Цветки являются протандрическими, что означает, что сначала пыльники выпускают свою пыльцу, прежде чем рыльце цветка может быть опылено. Этот механизм в определенной степени предотвращает самоопыление и способствует перекрестному опылению. Диски с нектаром присутствуют на верхней поверхности плодолистиков. Цветки привлекают опыляющих насекомых, после оплодотворения наружная часть зонтика изгибается внутрь, меняя зонтик на выпуклую форму, а затем на чашеобразную форму. Семена развиваются приблизительно через 30 дней и состоят из двух дробных о, каждый из которых содержит истинное семя.

Появление мужской стерильности у *Daucus* является особенностью, которая очень полезна для создания гибридных семян. Известны два типа мужской стерильности у рода *Daucus*^(1, 2, 3): так называемый тип "коричневый пыльник" (пыльники вырождаются и сморщиваются, прежде чем они могут распространять пыльцу) и лепестковидный тип, когда тычинки заменены лепестковыми структурами⁽¹⁾.

Мужская стерильность, наблюдаемая у моркови, как правило, является цитоплазматической мужской стерильностью, что означает, что генетическая детерминанта, обуславливающая этот признак, не находится на ядерных хромосомах, а скорее кодируется митохондриальной ДНК. Поскольку митохондрии передаются потомству только яйцеклетками, эта особенность наследуется по материнской линии. Поскольку возникновение мужской стерильности делает возможным 100% перекрестное опыление, гибриды *Daucus* легко создать. Морковь представляет собой культуру, которая страдает от инбридинговой депрессии, но гетерозис или гибридная энергия может быть очень сильным.

Морковь выращивают ради ее питательного стержневого корня. Большая часть этого корня состоит из внешней коры флоэмы и внутреннего ядра ксилемы. Большая часть коры по отношению к ядру, как считается, обладает высоким уровнем качества плодовоощной культуры. Известно множество форм стержневого корня, в зависимости от использования предпочтительна круглая, коническая или более цилиндрическая форма. Длина корня варьирует от 5 до даже 40 см; диаметр может варьировать от 1 до 10 см. Цвет стержневого корня является белым у дикого типа, но выращиваемые формы в основном оранжевые, иногда красные, пурпурные, черные или желтые. Стержневой корень богат каротином, особенно β -каротином, важным антиоксидантом, который может метаболизироваться в витамин А. Кроме того, морковь является источником пищевого волокна, витаминов С, В6 и К и антиоксидантного фалькаринола. Антиоксиданты (включая каротиноиды) изучались на предмет их способности предупреждать хронические заболевания. Свободные сахара в основном представляют собой сахарозу, глюкозу и фруктозу.

Выращивание моркови осуществляется во всем мире. В 2011 г. было произведено более 35 миллио-

нов тонн моркови ⁽⁴⁾. Как и в случае с любой культурой, которую выращивает человечество, существует также множество угроз для хорошего урожая этой культуры. Известно множество бактериальных, грибковых, вирусных и вириодных заболеваний наряду с множеством насекомых- и нематод-вредителей. Основные бактериальные и грибковые заболевания вызывают, среди прочего, *Xanthomonas campestris*, *Erwinia carotavora*, *Alternaria dauci*, *Alternaria radicina*, *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Sclerotinia* spp., *Fusarium* spp., *Botrytis cinerea* и *Phytophthora* spp. Такие нематоды, как *Heterodera carotae*, *Meloidogyne* spp. и *Pratylenchus* spp., вызывают серьезное повреждение стержневого корня, что приводит к потере урожая и продукту, который не подходит для маркетинга. Кроме того, известно, что огромное количество вирусов и вириодов оказывает неблагоприятное воздействие на здоровье растений и урожайность моркови.

Уменьшение урожайности моркови, вызванное этими патогенами, привело к проведению специализированных селекционных программ компаниями и государственными институтами для внесения устойчивости к этим патогенам. Одним из заболеваний, оказывающих существенное влияние на выращивание моркови, является вызываемая *Erysiphe heraclei* настоящая мучнистая роса. *Erysiphe heraclei* относится к Ascomyceta, порядку Erysiphales, и вызывает являющуюся болезнью листьев настоящую мучнистую росу у нескольких членов Umbelliferae ^(5, 6). Из *E. heraclei* известно несколько специальных форм, которые, в общем, специфичны для разных родов в этом семействе.

После заражения *Erysiphe heraclei* растения моркови становятся покрытыми грибами и спорами. Гаустории используются грибом для проникновения в клетки растения, но не для пересечения клеточной мембраны; следовательно, гриб присутствует внутриклеточно. Через эти гаустории питательные вещества и вода абсорбируются из экстраклеточного пространства зараженного растения. Сначала пятна гриба появляются на нижних листьях, а затем распространяются на более высокие части растения. Эти пятна распространяются до общей колонизации растения, в том числе, если присутствует, на цветонос. Болезнь наиболее тяжелая при температурах, имеющих место летом и осенью. Тяжелая инфекция приводит к потере листьев, уменьшению урожайности и в случае семенных культур к ухудшению качества семян. Потеря урожая на 20% не редка. Во влажных условиях инфицированная ткань может быть легко поражена другими (вторичными) патогенами, что приводит к быстрому опадению листьев. Из-за потери листьев пораженный урожай нельзя убирать должным образом, поскольку современные стеблеподъемники вытаскивают морковь из почвы, используя ее листья.

Одним из подходов к предотвращению воздействия инфицирования *Erysiphe heraclei* может быть применение фунгицидов. Однако применение пестицидов в целом все более ограничивается, и также сознание общественности заключается в том, чтобы избегать применения этих соединений. Более того, производители органической продукции не применяют фунгициды при их выращивании. Соответственно, в данной области существует явная потребность в обеспечении моркови, которая устойчива к *Erysiphe heraclei*.

В исследовании, проведенном японским институтом, попытка внесения устойчивости к *Erysiphe heraclei* была сделана с использованием трансгенного подхода, используя ген лизоцима человека под контролем конститутивного промотора 35S CaMV. Некоторые трансформанты продемонстрировали повышенную устойчивость к *Erysiphe heraclei*. Эта устойчивость была подтверждена у потомства ⁽⁷⁾.

Цель настоящего изобретения состоит в том, чтобы частично, если не полностью, обеспечить решение вышеуказанных проблем в данной области с использованием генетического материала из зародышевой плазмы *Daucus*. В частности, целью настоящего изобретения является, среди других целей, обеспечение растений моркови или *Daucus carota*, являющихся устойчивыми к *Erysiphe heraclei* или настоящей мучнистой росе.

Вышеуказанные цели, среди других целей, удовлетворяются за счет обеспечения растений, генов и молекулярных маркеров, как указано в прилагаемой формуле изобретения.

В частности, вышеуказанные цели, среди других целей, в соответствии с первым аспектом настоящего изобретения удовлетворяются за счет обеспечения растений *Daucus carota*, являющихся устойчивыми к настоящей мучнистой росе, вызываемой фитопатогеном *Erysiphe heraclei*, причем устойчивость обеспечивается первым геном устойчивости, или Eh1, расположенным на хромосоме 3 растения между SEQ ID NO: 4, также обозначаемой здесь как 9708, и SEQ ID NO: 5, также обозначаемой здесь как 9625.

В альтернативном варианте вышеуказанные цели, среди других целей, в соответствии с первым аспектом настоящего изобретения удовлетворяются за счет обеспечения растений *Daucus carota*, являющихся устойчивыми к настоящей мучнистой росе, вызываемой фитопатогеном *Erysiphe heraclei*, причем устойчивость обеспечивается первым геном устойчивости, или Eh1, расположенным на хромосоме 3 растения между любым из молекулярных маркеров, обозначенных здесь как 9618, 9620, 9624, 9703 или 9708, с одной стороны, и любым из молекулярных маркеров, обозначенных здесь как 9625, 9629, 9635, 9631 или 9636, с другой стороны.

В альтернативном варианте вышеуказанные цели, среди других целей, в соответствии с первым аспектом настоящего изобретения удовлетворяются за счет обеспечения растений *Daucus carota*, являющихся устойчивыми к настоящей мучнистой росе, вызываемой фитопатогеном *Erysiphe heraclei*, причем устойчивость обеспечивается первым геном устойчивости, или Eh1, расположенным на хромосоме 3 растения между любой из SEQ ID NO: 1, 2, 3 или 4, с одной стороны, и любой из SEQ ID NO: 5, 6 или 7, с

другой стороны.

Геном *Daucus carota* был (частично) секвенирован ⁽⁸⁾, и эта последовательность общедоступна в NCBI с порядковым номером PRJNA268187 ⁽⁹⁾. В последовательности PRJNA268187 первый ген устойчивости настоящего изобретения или Eh1 можно найти между положениями 1648619 и 1739519 хромосомы 3. Используя представленные здесь последовательности, квалифицированный специалист может легко идентифицировать первый ген устойчивости настоящего изобретения или Eh1 в другой общедоступной информации о последовательности генома *Daucus carota* и особенно его хромосомы 3, например, между положением SEQ ID NO: 4 и SEQ ID NO: 5 в ней. В альтернативном варианте первый ген устойчивости настоящего изобретения или Eh1 можно найти между любой из SEQ ID NO: 1, 2, 3 или 4, с одной стороны, и любой из SEQ ID NO: 5, 6 или 7, с другой стороны.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления этого первого аспекта настоящего изобретения у растений *Daucus carota* настоящего изобретения устойчивость дополнительно обеспечивается вторым геном устойчивости или Eh2, расположенным на хромосоме 3 растения между SEQ ID NO: 11, также обозначаемой здесь как 9671, и SEQ ID NO: 12, также обозначаемой здесь как 9672.

В альтернативном варианте этого предпочтительного варианта осуществления настоящего изобретения дополнительная устойчивость обеспечивается вторым геном устойчивости или Eh2, расположенным на хромосоме 3 растения между любым из молекулярных маркеров, обозначаемых здесь как 9659, 9666, 9669, 9670 или 9671, с одной стороны, и любым из молекулярных маркеров, обозначаемых здесь как 9672, 6709, 9674, 9677, 9528, 6909, 4201 или 6069, с другой стороны.

В альтернативном варианте этого предпочтительного варианта осуществления настоящего изобретения дополнительная устойчивость обеспечивается вторым геном устойчивости или Eh2, расположенным на хромосоме 3 растения между любой из SEQ ID NO: 8, 9, 10 или 11, с одной стороны, и любой из SEQ ID NO: 12, 13, 14 или 15, с другой стороны.

Геном *Daucus carota* был (частично) секвенирован, и эта последовательность общедоступна в NCBI с порядковым номером PRJNA268187 ⁽⁹⁾. В последовательности PRJNA268187 второй ген устойчивости настоящего изобретения или Eh2 можно найти между положениями 45210264 и 45845221 хромосомы 3. Используя представленные здесь последовательности, квалифицированный специалист может легко идентифицировать второй ген устойчивости настоящего изобретения или Eh2 в другой общедоступной информации о последовательности генома *Daucus carota* и особенно его хромосомы 3, например, между положением SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12 в ней. В альтернативном варианте второй ген устойчивости настоящего изобретения или Eh2 можно найти между любой из SEQ ID NO: 8, 9, 10 или 11, с одной стороны, и любой из SEQ ID NO: 12, 13, 14 или 15, с другой стороны.

В соответствии с другим предпочтительным вариантом осуществления первый ген устойчивости настоящего изобретения или Eh1 расположен на хромосоме 3 в 2,68 сМ, а второй ген устойчивости настоящего изобретения или Eh2 расположен на хромосоме 3 в 76,7 сМ. Как отмечено выше, эти положения на хромосоме в сантиморганах (сМ) соответствуют расстоянию в последовательности PRJNA268187 между положениями 1648619 и 1739519 и между 4522264 и 45845221 хромосомы 3 соответственно.

В соответствии с еще одним предпочтительным вариантом осуществления первый ген устойчивости настоящего изобретения или Eh1 можно получить, получен или происходит из семян растения *Daucus carota*, депонированного 19 марта 2015 г. под номером депонирования NCIMB 42389 (Ferguson Building, Craibstone Estate, Bucksburn, Aberdeen AB21 9YA, Соединенное Королевство). Иными словами, первый ген устойчивости настоящего изобретения или Eh1 является предпочтительно геном устойчивости, который можно найти в депозите семян NCIMB 42389.

В соответствии с еще одним предпочтительным вариантом осуществления второй ген устойчивости настоящего изобретения или Eh2 можно получить, получен или происходит из семян растения *Daucus carota*, депонированного 16 апреля 2015 г. под номером депонирования NCIMB 42397 (Ferguson Building, Craibstone Estate, Bucksburn, Aberdeen AB21 9YA, Соединенное Королевство). Иными словами, второй ген устойчивости настоящего изобретения или Eh2 является предпочтительно геном устойчивости, который можно найти в депозите семян NCIMB 42397.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения первый ген устойчивости настоящего изобретения или Eh1 может быть идентифицирован с помощью по крайней мере одного молекулярного маркера, выбираемого из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 7. Иными словами, первый ген устойчивости настоящего изобретения или Eh1 генетически связан по крайней мере с одним молекулярным маркером, выбираемым из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 7.

В соответствии с еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения второй ген устойчивости настоящего изобретения или Eh2 может быть идентифицирован с помощью по крайней мере одного молекулярного маркера, выбираемого из группы, состоящей из SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14 и SEQ ID NO: 15. Иными словами, второй ген устойчивости настоящего изобретения или Eh2 генетически связан по крайней мере с одним молекулярным маркером, выбираемым из группы, состоящей из SEQ ID NO: 8, SEQ ID

NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14 и SEQ ID NO: 15.

Принимая во внимание генетическую связь между первым геном устойчивости настоящего изобретения или Eh1 и молекулярными маркерами настоящего изобретения, настоящее изобретение в соответствии с особенно предпочтительным вариантом осуществления относится к растениям *Daucus carota*, содержащим в своем геноме по крайней мере одну геномную последовательность, выбираемую из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 7.

Принимая во внимание генетическую связь между вторым геном устойчивости настоящего изобретения или Eh2 и молекулярными маркерами настоящего изобретения, настоящее изобретение в соответствии с особенно предпочтительным вариантом осуществления относится к растениям *Daucus carota*, содержащим в своем геноме по крайней мере одну геномную последовательность, выбираемую из группы, состоящей из SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14 и SEQ ID NO: 15.

В соответствии с наиболее предпочтительным вариантом осуществления настоящее изобретение относится к растениям *Daucus carota*, содержащим в своем геноме по крайней мере одну геномную последовательность, выбираемую из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 7, и по крайней мере одну геномную последовательность, выбираемую из группы, состоящей из SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14 и SEQ ID NO: 15.

Растения, определенные выше, предпочтительно представляют собой гибридные растения, более предпочтительно стерильные гибридные растения и наиболее предпочтительно гибридные растения с мужской стерильностью, например с цитоплазматической мужской стерильностью.

Растения *Daucus carota* настоящего изобретения предпочтительно представляют собой растения *Daucus carota* ssp. *sativus*.

В соответствии с другим аспектом настоящее изобретение относится к семенам, съедобным частям, пыльце, яйцеклеткам, каллусу, суспензионной культуре, (соматическим) эмбрионам или частям растения *Daucus carota*, определенного выше.

Принимая во внимание генетическую связь между молекулярными маркерами настоящего изобретения и генами устойчивости настоящего изобретения Eh1 и Eh2, настоящее изобретение относится в соответствии с еще одним аспектом к применению одного или более молекулярных маркеров, выбираемых из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14 и SEQ ID NO: 15, для идентификации растения *Daucus carota*, являющегося устойчивым к настоящей мучнистой росе, вызываемой фитопатогеном *Erysiphe heraclei*.

Все еще принимая во внимание генетическую связь между молекулярными маркерами настоящего изобретения и генами устойчивости настоящего изобретения Eh1 и Eh2, настоящее изобретение относится в соответствии с еще одним аспектом к гену, обеспечивающему устойчивость к настоящей мучнистой росе, вызываемой фитопатогеном *Erysiphe heraclei*, причем ген расположен на хромосоме 3 в 2,6 сМ, и этот ген можно идентифицировать с помощью по крайней мере одного молекулярного маркера, выбираемого из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 7, и к гену, расположенному на хромосоме 3 в 76,7 сМ, причем этот ген можно идентифицировать с помощью по крайней мере одного молекулярного маркера, выбираемого из группы, состоящей из SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14 и SEQ ID NO: 15.

Настоящее изобретение будет дополнительно подробно описано в следующих примерах и чертежах, на которых

на фиг. 1 представлена схематическая физическая карта хромосомы 3 *Daucus carota*, на которой показаны как молекулярные маркеры настоящего изобретения, так и первый ген устойчивости настоящего изобретения Eh1 и второй ген устойчивости настоящего изобретения Eh2, обеспечивающие устойчивость к фитопатогену *Erysiphe heraclei*;

на фиг. 2 представлены последовательности маркеров SNP в качестве молекулярных маркеров, показанных на фиг. 1, и их положение на хромосоме 2 последовательности PRJNA268187⁽⁹⁾.

SEQ ID NO: 1-7 соответствуют SNP, представляющему ген устойчивости в локусе Eh1.

SEQ ID NO: 8-15 соответствуют SNP, представляющему ген устойчивости в локусе Eh2.

SEQ ID NO: 16-22 соответствуют SNP, представляющему ген восприимчивости в локусе Eh1.

SEQ ID NO: 23-30 соответствуют SNP, представляющему ген восприимчивости в локусе Eh2.

Использование кода в соответствии с нуклеотидным кодом IUPAC⁽¹⁰⁾:

A=аденин,

T=тимин,

C=цитозин,

G=гуанин,

K=G или T,

W=A или T,
Y=C или T.

Примеры

Пример 1. Испытание на устойчивость к *Erysiphe heraclei* в теплице.

Гриб в качестве облигатного паразита поддерживали на подходящих восприимчивых растениях моркови, помещая зараженные листья между ними. Инфекцию распространяли среди этих растений, используя вентилятор, с помощью потоков воздуха споры распределялись среди растений.

Растения, подлежащие испытанию на устойчивость, высевали в почву на столах, приблизительно 30 растений в ряд. Каждые 20 рядов растений для оценки ряда устойчивого материала для состязания 0 и состязания 1, и каждый восприимчивый материал был включен. Когда высота растений достигала приблизительно 3 см, заражение происходило путем добавления инфицированных листьев, которые четко демонстрировали споры грибов. Растения, подлежащие анализу на устойчивость, сначала гладили этими листьями, а затем листья для заражения помещали между молодыми растениями. Споры распространялись дальше с помощью вентилятора. Температура составляла $16\pm 2^\circ\text{C}$ ночью; $22\pm 2^\circ\text{C}$ в дневное время; минимум 16 ч света (или дольше, если продолжительность дня была больше) и максимум 8 ч темноты. Влажность поддерживали на высоком уровне, распыляя воду между столами несколько раз в неделю. Через 6 недель растения оценивали; инфицированные листья были покрыты белым мучнистым мицелием и спорами и часто становятся пораженными хлорозом.

Тяжесть инфекции отражали путем подсчета симптомов от 0 (полностью восприимчивые) до 9 (полностью устойчивые). Тщательно проверяли, что восприимчивые контрольные растения действительно демонстрируют симптомы *E. heraclei* инфекции.

Пример 2. Полевые испытания на устойчивость к *E. heraclei*.

Полевые испытания проводились в голландских климатологических условиях. Грибной инокулят был приготовлен, как описано выше в примере 1. Материал, подлежащий испытанию в полевых условиях, непосредственно высевается в первой половине мая.

Когда высота растений достигала приблизительно 3 см, инокулят распространяли путем размещения горшков со спорообразующими растениями в поле между молодыми материалами, подлежащими испытанию. Ветер будет распространять споры с растений для заражения.

Растения оценивали на их устойчивость или восприимчивость, когда симптомы были четко различимы в сухих погодных условиях. Тяжесть инфекции отражали путем подсчета симптомов от 0 (полностью восприимчивые) до 9 (полностью устойчивые).

Пример 3. Молекулярная характеристика геномной ДНК и картирование генов устойчивости.

Применяя два доступных генетических ресурса устойчивости, описанных выше, две популяции F1S1 были получены путем скрещивания различных источников устойчивости с восприимчивой линией моркови, после чего полученное в результате растение F1 самоопылялось. Наблюдаемая сегрегация три устойчивых растения на одно восприимчивое растение говорила о том, что действительно в обоих случаях устойчивость основана на доминантном признаке.

Основные исследования приводят к частичной генетической карте *D. carota*, а также к почти полной последовательности ее генома, представленной NCBI в виде проекта PRJNA268187⁽⁹⁾.

По крайней мере 2000 семян было собрано от поколения F1S1 от скрещивания между дифференциальными источниками устойчивости и восприимчивой линией моркови. Для выполнения картирования QTL (локуса количественных признаков) 1200 растений от каждого скрещивания выращивали в теплице. От каждого индивидуального растения листовой материал использовался для выделения ДНК и последовательного маркерного анализа.

Инбредные растения из отобранных индивидуальных растений с кроссинговером вблизи локуса устойчивости подвергали испытанию в теплице, как описано в примере 1, и была подтверждена устойчивость.

Чтобы разработать больше маркеров в виде однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в области гена устойчивости, был начат относящийся к последовательности проект с использованием доступных источников устойчивости к *E. heraclei*.

Используя маркеры SNP, охватывающие весь геном, оба гена устойчивости были определены как расположенные на хромосоме 3. Используя последовательности двух устойчивых линий и одной восприимчивой линии в сочетании с доступной последовательностью генома для обоих локусов устойчивости было обнаружено множество SNP. На основе кроссинговеров, присутствующих в популяциях картирования, каждый локус устойчивости может быть расположен в последовательности генома, представленной NCBI как PRJNA268187⁽⁹⁾.

Для *D. carota* с входящим номером NCIMB42389 локус устойчивости (Eh1) был расположен на хромосоме 3 в 2,68 cM, что соответствует фрагменту между положением 1648619 и 1739519 п.о.

Используя последовательности, описанные выше, больше маркеров в виде SNP было разработано в области локуса устойчивости и использовано для генотипирования источников устойчивости и индивидуальных растений с кроссинговером вблизи локуса устойчивости, см. табл. 1 ниже.

Генотипирование и оценка проверки на вызов болезни у информативных индивидуальных растений в случае *D. carota* с входящим номером NCIMB42389

Маркер	Физическое положение	NCIMB42389	Восприимчивые	Индивидуальных растений F1S1													
				S9342-13	S9342-19	S9342-05	S9342-12	S9342-21	S9342-22	S9342-09	S9342-25	S9342-01	S9342-04	S9342-18	S9342-02	S9342-03	
9618	CHR3: 16486 19	a	b	b	h	h	h	H	h	h	h	h	h	h	b	b	b
9620	CHR3: 16548 01	a	b	h	h	h	h	H	h	h	h	h	h	h	b	b	b
9624	CHR3: 16613 51	a	b	h	h	h	h	H	h	h	h	h	h	h	b	b	b
9703	CHR3: 16616 62	a	b	h	h	h	h	H	h	h	h	h	h	h	b	b	b
9708	CHR3: 16633 68	a	b	h	h	h	h	H	h	h	h	h	h	h	b	b	b
проверка на вызов болезни		r	s	r	r	r	r	R	r	r	r	r	r	r	s	s	s
9625	CHR3: 16720 79	a	b	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	h	b	b	b
9629	CHR3: 17057 39	a	b	h	h	h	h	H	h	h	h	h	h	h	b	b	b
9635	CHR3: 17343 35	a	b	h	h	h	h	H	h	h	h	h	h	h	b	b	b
9631 *	CHR3: 17226 13	a	b	h	h	h	h	B	h	h	h	h	h	h	b	b	b
9626	CHR3: 17395 19	a	b	h	h	h	h	B	h	h	h	h	h	h	b	b	b

* Относительно маркера 9631: на основе данных кроссингвера физическая карта в этой области была скорректирована для упорядочивания маркеров

Локус устойчивости расположен между маркерами 9618 и 9631.

Кроме того, для *D. carota* с входящим номером NCIMB42397 локус устойчивости (Eh2) был определен на хромосоме 3 вблизи 76,7 cM, что соответствует фрагменту между положениями 42210264 п.о. и 45845221 п.о.

Также для генотипа с входящим номером NCIMB42397 больше маркеров можно было разработать с использованием информации из относящегося к последовательности проекта и использовать для генотипирования входящего номера NCIMB42397 и индивидуальных растений с кроссингвером, см. табл. 2 ниже.

Генотипирование и оценка проверки на вызов болезни у информативных индивидуальных растений с генотипом с входящим номером NCIMB42397

Маркер	Физическое положение	NCIMB42397	Восприимчивые	Индивидуальных растений F1S1												
				T9067-4	T9067-5	T9067-6	T9067-17	T9067-18	T9067-19	T9067-20	T9067-7	T9067-8	T9067-11	T9067-13	T9067-16	
9659	CHR3: 4521026 4	a	b	h	h	h	H	h	h	h	h	h	h	b	b	b
9666	CHR3: 4526458 5	a	b	h	h	h	H	h	h	h	h	b	b	b	b	b
9669	CHR3: 4529016 6	a	b	h	h	h	H	h	h	h	h	b	b	b	b	b
9670	CHR3: 4529508 9	a	b	h	h	h	H	h	h	h	h	b	b	b	b	b
9671	CHR3: 4530201 9	a	b	h	h	h	H	h	h	h	h	b	b	b	b	b
проверка на вызов болезни		r	s	r	r	r	R	r	r	r	r	s	s	s	s	s
9672	CHR3: 4531102 5	a	b	h	h	h	H	h	h	h	h	b	b	b	b	b
6709	CHR3: 4531391 9	a	b	h	h	h	H	h	h	h	h	b	b	b	b	b
9674	CHR3: 4532545 7	a	b	h	h	h	H	h	h	h	h	b	b	B	b	b
9677	CHR3: 4535038 5	a	b	h	h	h	H	b	h	h	h	b	b	B	b	b
9528	CHR3: 4539747 7	a	b	h	h	h	H	h	h	h	h	b	b	b	b	b
6909	CHR3: 4539980 9	a	b	h	h	h	H	h	h	h	h	b	b	b	b	b
4201	CHR3: 4541872 0	a	b	h	h	h	H	h	h	h	h	b	b	b	b	b
6060	CHR3: 4584522	a	b	h	h	h	h	h	h	h	b	b	b	h	h	b
	1															

Графически эту ситуацию можно альтернативно проиллюстрировать, как показано на фиг. 1. Как видно и из положения в сМ, и из положения в парах оснований и проиллюстрировано на фиг. 1,

вовлеченные доминантные гены устойчивости настоящего изобретения расположены далеко друг от друга на хромосоме 3. Это открытие двух отдельных генов устойчивости означает, что эти гены устойчивости предпочтительно могут быть состыкованы, например, в гибрид, чтобы иметь более прочную генетическую основу для долговременной устойчивости.

Информация о депонировании.

Образцы семян источников устойчивости, упомянутых выше, были депонированы в NCIMB, Ferguson Building; Craibstone Estate, Bucksburn, Aberdeen, Шотландия, AB21 9YA, как

NCIMB42389 (D.carota #954561), 19 марта 2015;

NCIMB42397: (D.carota #1360572), 16 апреля 2015.

Список литературы.

1. Kitagawa, J., U. Posluszny, J.M. Gerrath and D.J. Wolyn. Developmental and morphological analyses of homeotic cytoplasmic male sterile and fertile carrot flowers. Sex. Plant Reprod. 7: 41-50 (1994)
2. Welch J.E., Grimball E.L. Male sterility in the carrot. Science. 1947. Vol. 106, № 2763 p. 594
3. Munger, H. Petaloid type pers. comm. Cited in: Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources Vegetables; edited by C. Kole. Springer. ISBN 978-3-642-20450-0 p. 106. (2011)
4. http://en.wikipedia.org/wiki/CarrOt#cite_note-Zidorn_2005-14 (data of the FAO, including turnip)
5. Braun U (1987) A monograph of the *Erysiphales* (powdery mildews). Beiheft zur Nova Hedwigia 89, 1-700.
6. Cunnington JH, Watson A, Liberato JR, Jones R (2008) First record of powdery mildew on carrots in Australia. Australasian Plant Disease Notes 3, 38-41.
7. Takaichi, M. and K. Oeda. Transgenic carrots with enhanced resistance against two major pathogens, *Erysiphe heraclei* and *Alternaria dauci*. Plant Sci. 153: 135-144 (2000)
8. <http://www.vcru.wisc.edu/simonlab/sdata/seq/index.html>
9. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/PRJNA268187/> (version 2, October 9, 2015)
10. <http://www.bioinformatics.org/sms/iupac.html>

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Растение *Daucus carota*, являющееся устойчивым к настоящей мучнистой росе, вызываемой фитопатогеном *Erysiphe heraclei*, причем указанная устойчивость обеспечивается первым геном устойчивости, расположенным на хромосоме 3 указанного растения между SEQ ID NO: 4 и SEQ ID NO: 5, и вторым геном устойчивости, расположенным на хромосоме 3 указанного растения между SEQ ID NO: 11 и SEQ ID NO: 12.

2. Растение *Daucus carota* по п.1, причем указанный первый ген устойчивости расположен на хромосоме 3 в 2,68 сМ.

3. Растение *Daucus carota* по п.1 или 2, причем указанный второй ген устойчивости расположен на хромосоме 3 в 76,7 сМ.

4. Растение *Daucus carota* по любому из пп.1-3, причем указанный первый ген устойчивости получен из семян растения *Daucus carota*, депонированных под номером депонирования NCIMB 42389.

5. Растение *Daucus carota* по любому из пп.3, 4, причем указанный второй ген устойчивости получен из семян растения *Daucus carota*, депонированных под номером депонирования NCIMB 42397.

6. Растение *Daucus carota* по любому из пп.1-5, причем указанный первый ген устойчивости может быть идентифицирован с помощью по крайней мере одного молекулярного маркера, выбираемого из

группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 7.

7. Растение *Daucus carota* по любому из пп.3-6, причем указанный второй ген устойчивости может быть идентифицирован с помощью по крайней мере одного молекулярного маркера, выбираемого из группы, состоящей из SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14 и SEQ ID NO: 15.

8. Растение *Daucus carota* по любому из пп.1-7, содержащее в своем геноме по крайней мере одну геномную последовательность, выбираемую из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 7.

9. Растение *Daucus carota* по любому из пп.3-8, содержащее в своем геноме по крайней мере одну геномную последовательность, выбираемую из группы, состоящей из SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14 и SEQ ID NO: 15.

10. Растение *Daucus carota* по любому из пп.1-9, причем указанное растение является гибридным растением.

11. Растение *Daucus carota* по п.10, причем указанное гибридное растение является стерильным гибридным растением.

12. Растение *Daucus carota* по п.11, причем указанное стерильное гибридное растение является гибридным растением с мужской стерильностью, предпочтительно с цитоплазматической мужской стерильностью.

13. Растение *Daucus carota* по любому из пп.1-12, причем указанное растение представляет собой *Daucus carota* ssp. *sativus*.

14. Семена растения *Daucus carota* по любому из пп.1-13.

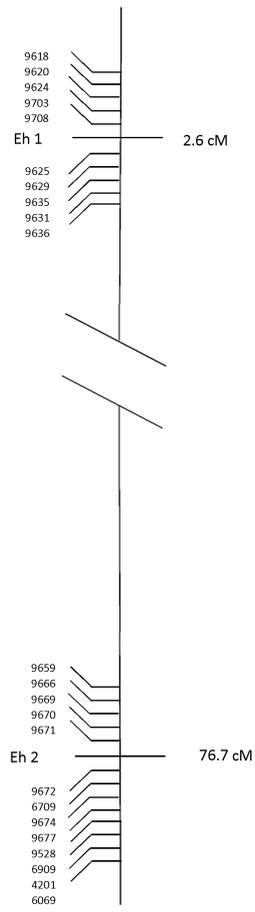
15. Применение по меньшей мере одного маркера, выбранного из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, для первого гена устойчивости и по меньшей мере одного маркера, выбранного из группы, состоящей из SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14 и SEQ ID NO: 15, для второго гена устойчивости, для идентификации растения *Daucus carota*, являющегося устойчивым к настоящей мучнистой росе, вызываемой фитопатогеном *Erysiphe heraclei*.

16. Ген, обеспечивающий устойчивость к настоящей мучнистой росе, вызываемой фитопатогеном *Erysiphe heraclei*, при этом указанный ген расположен на хромосоме 3 в 2,6 сМ, и указанный ген можно идентифицировать с помощью по крайней мере одного молекулярного маркера, выбираемого из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 7.

17. Ген, обеспечивающий устойчивость к настоящей мучнистой росе, вызываемой фитопатогеном *Erysiphe heraclei*, при этом указанный ген расположен на хромосоме 3 в 76,7 сМ, и указанный ген можно идентифицировать с помощью по крайней мере одного молекулярного маркера, выбираемого из группы, состоящей из SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14 и SEQ ID NO: 15.

18. Растение *Daucus carota*, содержащее ген устойчивости по п.16, ген устойчивости по п.17 или ген устойчивости по п.16 и ген устойчивости по п.17.

037579



Фиг. 1

SEQ ID No.	SNP	Положение	Последовательность (нуклеотид SNP выделен жирным шрифтом и подчеркнут)
SEQ ID No. 1	9620	1,654,801	CTGACCCGACCCGAGACTCGCCGACCTTCAACTCCCTCCAGACA <u>TC</u> ACCCGACCCGACCCCGCTCAAACCCGACAAATCCTCCTCCGACATC G
SEQ ID No. 2	9624	1,661,351	AATCTTGAAGTTAGTAGCCTTTATTGGCCTTAGCTTGGCAACATCTGC <u>GG</u> GAGACAAATAGGACTATGTACAATAGCAGCAGAATTGCAGTTTTTGAT AA
SEQ ID No. 3	9703	1,661,662	TTCTAAAAATTCGGAAGAAAATGCAAATGCTTACCGGGCACAAGAT <u>GA</u> CCGTTCCAACGGATTGGTCTTAGGATGTAGCCAGATTTTAAAGCCT CAG
SEQ ID No. 4	9708	1,663,368	GGTAATGTACTTAAAAAAGCACTCCAACACTTCTAGTGGTTACTTA <u>GA</u> TACCAGCAYAWYCTCAAATYCTAGCCATTACCTATTTAAGTAA C
SEQ ID No. 5	9625	1,672,079	GCCTTTCAGCTCGAGGGCCGATCTCAGTCCGGTCTGAGGAAATCTTGC <u>AG</u> GCCTCCGTTAGACCTACGCCCGTAGAAACTATCATCATGTCGCTTG CC
SEQ ID No. 6	9629	1,705,739	CCTAATGACAGGGCTGAAATCTGGCGGTCCGAAAGGCAACAGAGCA <u>AC</u> CCGACTCTCGTATATCCTTTCATTCTCTGCTCCCAATTTTTTA A
SEQ ID No. 7	9635	1,734,335	GATACTTCAGAGTCTCAATGAACCTGGCAACGGATCATCTCGAAGGT <u>TT</u> CTTCGAGAACCACCAATTAAGTACTGGGGTAAGGCACCAAGTCC TTG
SEQ ID No. 8	9666	45,264,585	TAATAACGTATATATATGATGACTTCTAGCACTTGGTTGAAAGATA <u>AA</u> AATCATTGAAACACTTGGTTGAACCTTCGATTGAAGATAAGGTCTC T
SEQ ID No. 9	9669	45,290,166	GCCATTAGAGGAACCAATAACTGTGAACAGCGCGGCTAAGTAAATAA <u>CT</u> TTTATAGCTGGGACAGACTAGTCGAGTAATGTCTATCAAACCGATG GTT
SEQ ID No. 10	9670	45,295,089	TTGAATCTGCTGAAACTTGGTCATGCTCCTGGTGTGGCACTATTA <u>TA</u> ATTAACATGGACGGGCTCTGTTTCATTAAGCAGAGTTAATAGTTT C
SEQ ID No. 11	9671	45,302,019	TACGTCTGATGATGAGTGKTTTTCATGAATTCGGGGTCTGAGATAATA <u>CA</u> TCCGACGACTTCAGACCAAGCTACTCCTCATGATTTAGCAGG A
SEQ ID No. 12	9672	45,311,025	CTCTAATACCAATTTGTGTTCTAATTTCTTGTTCAGGTCACCTTACTTTA <u>CAT</u> CCTAGGCTGGTGACCCGTTTCTAAGCTTATCTAGTGTGGTTGTT
SEQ ID No. 13	6709	45,313,919	ATCCCTGTGAGAAAATTTACGTGCGAAAAGAAAGGCTCAGCAGCGGA TCGGAGGAGCTGTAGTAAGAGT
SEQ ID No. 14	9674	45,325,457	GCAAGTATTACCCAAAATTTGCCCAATATATATTTTTGTATCCGGCTA <u>ATT</u> GATTGCACCAATGTCAACATTTGACCAWGAAGAAAGACTCCCTTA A
SEQ ID No. 15	9677	45,350,385	TGTACGATATATGTTCACTGTTCTTGTAGCCTGATTTTACACAATCTTTG <u>AA</u> TCCGCGCTGAAAAATGAACTTTAGAAAGTTTCTTTGATCTCTTAA
SEQ ID No. 16	9620	1,654,801	CTGACCCGACCCGAGACTCGCCGACCTTCAACTCCCTCCAGACA <u>CC</u> ACCCGACCCGACCCCGCTCAAACCCGACAAATCCTCCTCCGACATC G
SEQ ID No. 17	9624	1,661,351	AATCTTGAAGTTAGTAGCCTTTATTGGCCTTAGCTTGGCAACATCTGC <u>AG</u> GAGACAAATAGGACTATGTACAATAGCAGCAGAATTGCAGTTTTTGAT AA
SEQ ID No. 18	9703	1,661,662	TTCTAAAAATTCGGAAGAAAATGCAAATGCTTACCGGGCACAAGAT <u>GA</u> ACGTTCCAACGGATTGGTCTTAGGATGTGAGCCAGATTTTAAAGCCT CAG
SEQ ID No. 19	9708	1,663,368	GGTAATGTACTTAAAAAAGCACTCCAACACTTCTAGTGGTTACTTA <u>AT</u> TACCAGCAYAWYCTCAAATYCTAGCCATTACCTATTTAAGTAA C
SEQ ID No. 20	9625	1,672,079	GCCTTTCAGCTCGAGGGCCGATCTCAGTCCGGTCTGAGGAAATCTTGC <u>AG</u> GCCTCCGTTAGACCTACGCCCGTAGAAACTATCATCATGTCGCTTG CC
SEQ ID No. 21	9629	1,705,739	CCTAATGACAGGGCTGAAATCTGGCGGTCCGAAAGGCAACAGAGCA <u>AC</u> TCCGACTCTCGTATATCCTTTCATTCTCTGCTCCCAATTTTTTA A
SEQ ID No. 22	9635	1,734,335	GATACTTCAGAGTCTCAATGAACCTGGCAACGGATCATCTCGAAGGT <u>TT</u> CTTCGAGAACCACCAATTAAGTACTGGGGTAAGGCACCAAGTCC TTG
SEQ ID No. 23	9666	45,264,585	TAATAACGTATATATATGATGACTTCTAGCACTTGGTTGAAAGATA <u>GA</u> AATCATTGAAACACTTGGTTGAACCTTCGATTGAAGATAAGGTCTC T
SEQ ID No. 24	9669	45,290,166	GCCATTAGAGGAACCAATAACTGTGAACAGCGCGGCTAAGTAAATAA <u>CA</u> TTTATAGCTGGGACAGACTAGTCGAGTAATGTCTATCAAACCGATG GTT
SEQ ID No. 25	9670	45,295,089	TTGAATCTGCTGAAACTTGGTCATGCTCCTGGTGTGGCACTATTA <u>AA</u> ATTAACATGGACGGGCTCTGTTTCATTAAGCAGAGTTAATAGTT TC
SEQ ID No. 26	9671	45,302,019	TACGTCTGATGATGAGTGKTTTTCATGAATTCGGGGTCTGAGATAATA <u>GA</u> TCCGACGACTTCAGACCAAGCTACTCCTCATGATTTAGCAG GA
SEQ ID No. 27	9672	45,311,025	CTCTAATACCAATTTGTGTTCTAATTTCTTGTTCAGGTCACCTTACTTTGA <u>CAT</u> CCTAGGCTGGTGACCCGTTTCTAAGCTTATCTAGTGTGGTTGTT
SEQ ID No. 28	6709	45,313,919	ATCCCTGTGAGAAAATTTACGTGCGAAAAGAAAGGCTCAGCAGCGGA TCGGAGGAGCTGTAGTAAGAGT
SEQ ID No. 29	9674	45,325,457	GCAAGTATTACCCAAAATTTGCCCAATATATATTTTTGTATCCGGCTA <u>ATT</u> GATTGCACCAATGTCAACATTTGACCAWGAAGAAAGACTCCCTTA A
SEQ ID No. 30	9677	45,350,385	TGTACGATATATGTTCACTGTTCTTGTAGCCTGATTTTACACAATCTTTA <u>AA</u> TCCGCGCTGAAAAATGAACTTTAGAAAGTTTCTTTGATCTCTTAA

Фиг. 2



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2