



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.03.24

(21) Номер заявки
201890462

(22) Дата подачи заявки
2016.08.04

(51) Int. Cl. *A01H 1/04* (2006.01)
C12Q 1/68 (2006.01)
C12N 15/82 (2006.01)

(54) РАСТЕНИЯ Brassica С УСТОЙЧИВОСТЬЮ К РАСТРЕСКИВАНИЮ СТРУЧКОВ

(31) 15306287.2

(32) 2015.08.11

(33) EP

(43) 2018.07.31

(86) PCT/EP2016/068612

(87) WO 2017/025420 2017.02.16

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЛИМАГРЕН ЭРОП (FR)

(72) Изобретатель:
Абель Стефан (DE), Аннетон Лоран (FR), Гегас Василис (GB), Комадран Хорди, Мартинан Жан-Пьер (FR)

(74) Представитель:
Саломатина И.С., Фелицына С.Б. (RU)

(56) US-A1-2009205065
ABHA AGNIHOTRI ET AL.: "Production of Brassica napus x Raphanobrassica Hybrids by Embryo Rescue: An Attempt to Introduce Shattering Resistance into B. napus", PLANT BREEDING, vol. 105, no. 4, 1 December 1990 (1990-12-01), pages 292-299, XP055243943, DE ISSN: 0179-9541, DOI: 10.1111/j.1439-0523.1990.tb01288.x, the whole document
WO-A1-2005074671

S. Hossain ET AL.: "Breeding Brassica napus for Shatter Resistance", In: "Plant Breeding", 11 January 2012 (2012-01-11), InTech, XP055216524, ISBN: 978-9-53-307932-5 DOI: 10.5772/29051

DENGFENG HONG ET AL.: "AFLP and SCAR markers linked to the suppressor gene (Rf) of a dominant genetic male sterility in rapeseed (Brassica napus L.)", EUPHYTICA, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, DO, vol. 151, no. 3, 5 September 2006 (2006-09-05), pages

401-409, XP019449035, ISSN: 1573-5060, DOI: 10.1007/S10681-006-9162-Z

OSTERGAARD LARS ET AL.: "Pod shatter-resistant Brassica fruit produced by ectopic expression of the FRUITFULL gene", PLANT BIOTECHNOLOGY JOURNAL, BLACKWELL PUB, GB, vol. 4, no. 1, 1 January 2006 (2006-01-01), pages 45-51, XP002627676, ISSN: 1467-7644, DOI: 10.1111/J.1467-7652.2005.00156.X [retrieved on 2005-08-16]

PRAKASH S. ET AL.: "RECONSTRUCTION OF ALLOPOLYPLOID BRASSICAS THROUGH NONHOMOLOGOUS RECOMBINATION: INTROGRESSION OF RESISTANCE TO POD SHATTER IN BRASSICA NAPUS", GENETICAL RESEARCH, CAMBRIDGE UNIVERSITY PRESS, CAMBRIDGE, GB, vol. 56, no. 1, 1 August 1990 (1990-08-01), page 1/02, XP000574919, ISSN: 0016-6723

WEN Y.C. ET AL.: "Identification of QTLs involved in pod-shatter resistance in Brassica napus L", CROP & PASTURE SCIENCE, vol. 63, no. 11-12, 1 January 2012 (2012-01-01), pages 1082-1089, XP009186275

DELOURME R. ET AL.: "IDENTIFICATION OF RAPD MARKERS LINKED TO A FERTILITY RESTORER GENE FOR THE OGURA RADISH CYTOPLASMIC MALE STERILITY OF RAPESEED (BRASSICA NAPUS L.)", THEORETICAL AND APPLIED GENETICS, SPRINGER, BERLIN, DE, vol. 88, no. 6/07, 1 January 1994 (1994-01-01), pages 741-748, XP002043620, ISSN: 0040-5752, DOI: 10.1007/BF01253979

HARSH RAMAN ET AL.: "Genome-Wide Delineation of Natural Variation for Pod Shatter Resistance in Brassica napus", PLOS ONE, vol. 9, no. 7, 1 July 2014 (2014-07-01), page e101673, XP055216500, DOI: 10.1371/journal.pone.0101673

ZHIYONG HU ET AL.: "Discovery of Pod Shatter-Resistant Associated SNPs by Deep Sequencing of a Representative Library Followed by Bulk Segregant Analysis in Rapeseed", PLOS ONE, vol. 7, no. 4, 17 April 2012 (2012-04-17), page e34253, XP055217252, DOI: 10.1371/journal.pone.0034253

(57) Изобретение относится к области селекции растений, в частности к разработке новых растений Brassica с устойчивостью к растрескиванию стручков. В частности, изобретением предусмотрены растения Brassica, содержащие в своем геноме геномный фрагмент Rarphanus, причем данный фрагмент придает фенотип устойчивости к растрескиванию стручков POSH⁺, а также характеризуется отсутствием по меньшей мере одного SNP по меньшей мере в одном из следующих маркеров Rarphanus: SEQ ID NO: 4-18.

Область техники, к которой относится изобретение

Изобретение относится к области селекции растений, в частности к разработке новых растений Brassica с устойчивостью к растрескиванию стручков.

Уровень техники

Культура рапса, который также называют "canola" по ту сторону Атлантического океана, широко распространена на всех континентах из-за ее многочисленных достоинств как в пищевом, так и индустриальном секторах. Так, из семян рапса получают много масла, которое широко применяется в качестве пищевого продукта, а также и биотоплива, особенно в автомобильной промышленности и т.п. Из рапса также получают жмых, который является хорошим источником белка в кормах для животных (крупного рогатого скота, свиней и домашней птицы).

Несмотря на эти достоинства, пищевое применение рапсового масла долгое время было ограниченным из-за чрезмерного содержания эруковой кислоты. Так, у различных разновидностей рапса уровень эруковой кислоты может составлять до 50% от общего содержания жирных кислот этого растения, что оказывает пагубное воздействие на здоровье человека.

Точно так же применению рапса для производства кормов долгое время мешало высокое содержание глюкозинолатов в семенах. При получении жмыха из размолотых семян высвобождается фермент мирозиназа, который превращает глюкозинолаты семян в различные побочные продукты типа глюкозы, тиоцианатов, изотиоцианатов и нитрилов, которые могут вызывать метаболические нарушения у млекопитающих. Широкое развитие культуры рапса в основном связано с двумя главными техническими достижениями: снижением уровня эруковой кислоты в масле и снижением уровня глюкозинолатов в семенах. Так, сейчас селекционные станции выпускают коммерческие сорта, у которых уровень эруковой кислоты составляет менее 2% от общего содержания жирных кислот у растений рапса. Более того, в Европе декретом 2294/92 установлено максимальное приемлемое содержание глюкозинолатов в семенах 25 мкмоль на 1 г семян при влажности 9%. Поскольку при получении продуктов из семян рапса представляют интерес два параметра: содержание глюкозинолатов и уровень эруковой кислоты, то селекционеры стремились вывести разновидности, называемые "два ноля", т.е. разновидности рапса с очень низким уровнем эруковой кислоты в масле и низким содержанием глюкозинолатов в семенах.

Хотя для работ по селекции Brassica важное значение имеют признаки масличных семян, однако для создания более конкурентоспособных новых сортов также проводится селекция и по другим агрономическим признакам. Например, по устойчивости к болезням, урожайности, морфологическим признакам типа длины стручков или физиологическим признакам типа мужской стерильности и восстановления фертильности или устойчивости к растрескиванию. Растрескивание стручков имеет агрономическое значение, так как оно может приводить к преждевременному выпадению семян до сбора урожая. Неблагоприятные погодные условия могут усугублять этот процесс, вызывая потерю более 50% семян. Эта потеря семян не только оказывает сильное влияние на урожайность, но и приводит к тому, что культура превращается в сорняк в следующий вегетационный период.

Для лучшего понимания генетического детерминизма растрескивания стручков использовались мутанты Arabidopsis. Было установлено, что в регуляции устойчивости к растрескиванию стручков участвуют различные гены, кодирующие факторы транскрипции. Например, в развитии краев створки участвуют Shatterproof 1 (SHP1) и 2 (SPH2), NAC, Indehiscent (IND), Alcatraz (ALC). В подавлении экспрессии генов идентичности краев створки участвуют Replumless (RPL) и Fruitfull (FUL). Функции FUL и IND проверялись методом эктопической экспрессии.

У масличных культур типа Brassica napus была выявлена естественная генетическая вариабельность по устойчивости к растрескиванию. Один из главных локусов был идентифицирован из популяции F2, происходящей из китайских родительских линий B. napus, и картирован на хромосоме A09 (Hu Z. et al., 2012. Discovery of pod shatter-resistant associated SNPs by deep sequencing of a representative library followed by bulk segregant analysis in rapeseed. PLoS ONE, 7:e34253). Проведенные недавно эксперименты на бипарентальной популяции и различных наборах зародышевой плазмы из Brassica napus позволили идентифицировать несколько QTL для устойчивости к растрескиванию стручков. Они были картированы на разных хромосомах в геноме Brassica napus (Raman et al., 2014. Genome-wide delineation of natural variation for pod shatter resistance in Brassica napus. PLoS ONE, 9, 7:e101673). Интересно, что авторы делают вывод о трудностях при выявлении функции аллельной вариации в придании устойчивости к растрескиванию стручков, в особенности из-за ожидаемого высокого уровня числа копий различных генов, участвующих в растрескивании стручков, и сложности их организации в геноме.

Рапс является самоопыляющимся видом, причем его разновидности уже давно являются лишь популяционными разновидностями, а не гибридами. Однако разработка гибридных растений рапса представляет большой интерес как для фермеров, так и для селекционеров, так как она позволяет получить лучшие растения, проявляющие свойства гетерозиса (или гибридной силы), гомеостаза (устойчивости растений в разных средах), возможности введения и комбинирования генов устойчивости к насекомым, грибкам, бактериям или вирусам либо адаптации к абиотическому стрессу. Но такое выведение гибридов рапса требует эффективных средств контроля за опылением. Для этого были разработаны системы цитоплазматической мужской стерильности (CMS, cytoplasmic male sterility) типа Polima и особенно системы

Kosena и Ogura.

Система цитоплазматической мужской стерильности Ogura основывается на использовании детерминанты мужской стерильности, полученной из цитоплазмы редиса (*Raphanus sativus*), которая была перенесена из редиса в *Brassica napus* посредством межвидовых скрещиваний, спасения зародышей и обратного скрещивания (Bannerot et al., 1974). Для получения гибридов с цитоплазматической мужской стерильностью потребовалось слияние протопластов (Pelletier et al., 1983). Но в CMS Ogura цитоплазматическая мужская стерильность является доминантной, гибридные растения рапса не производят пыльцы, а без пыльцы у растений не образуются семена. Чтобы исправить эту ситуацию и получить урожай, необходимо, чтобы у мужского исходного растения гибрида был ген, восстанавливающий мужскую фертильность. Такой ген, восстанавливающий мужскую фертильность в системе Ogura, был идентифицирован у редиса *Raphanus sativus* и перенесен в растения *Brassica*, носители цитоплазматической мужской стерильности, в Национальном институте агрономических исследований в 1987 г. (Pelletier et al., 1987, Proc. 7th Int. Rapeseed Conf. Poznan, Poland, 113/119). Восстанавливающий ген Rf описан в патентной заявке WO 92/05251 и в Delourme et al., 1991, Proc. 8th Int. Rapeseed Conf. Saskatoon, Canada, 1506/1510. Однако полученные растения, несущие этот ген Rf, восстанавливающий мужскую фертильность, имеют два основных недостатка: значительное повышение уровня глюкозинолатов в семенах и значительное ухудшение агрономических характеристик растений, как-то уменьшение количества произведенных семян, снижение устойчивости к болезням и усиление подверженности к полеганию. Эти недостатки, по-видимому, напрямую связаны с несущим интрогрессию фрагментом, включающим восстанавливающий цитоплазматическую мужскую фертильность ген Rf, перенесенный из *Raphanus sativus*. Тот участок хромосомы, который не содержит восстанавливающего гена Rf, содержит один или несколько генов, ведущих к вышеуказанным недостаткам. Чтобы исправить эту ситуацию, различные исследовательские программы были направлены на поиск рекомбинационных событий в этом участке хромосомы, разрушающих при рекомбинации существующие связи между сегментами ДНК, кодирующими различные признаки. Хотя исследованиям мешал тот факт, что участок хромосомы, окружающий восстанавливающий ген Rf, с большим трудом поддается рекомбинации, но в различных патентных заявках описано получение такие рекомбинационных событий во фрагменте из *Raphanus*, которые дают новые рекомбинантные линии, несущие ген Rf, а также приводят к снижению уровня глюкозинолатов и улучшению размера стручков (см. WO 97/02737, WO 98/27806, WO 2005/002324, WO 2005/074671 и WO 2011/020698). В каждом из этих документов описано получение специфических событий рекомбинации между геном Rf, восстанавливающим мужскую фертильность, и генами, связанными с высоким уровнем глюкозинолатов в семенах, или генами, связанными с небольшим размером стручков, причем каждое событие характеризуется при помощи определенных маркеров.

Для коммерциализации растений необходим низкий уровень глюкозинолатов в семенах и хороший размер стручков. Одним из эффективных способов снижения уровня глюкозинолатов и улучшения размера стручков в растениях Ogura с восстанавливающим геном является уменьшение интрогрессии *Raphanus*. С другой стороны, снижение размера фрагмента *Raphanus* может привести к устранению нужных агрономических признаков. Одним из этих агрономических признаков, пропадающих после уменьшения размера фрагмента *Raphanus*, является устойчивость к растрескиванию стручков, которая имеет большое значение для уменьшения потери семян перед сбором урожая и является главным преимуществом гибридов Ogura. Поэтому необходимы новые разработки в этой области, но они сильно затруднены из-за очень низкого уровня рекомбинации во фрагменте *Raphanus*, отсутствия картирования или секвенирования генома *Raphanus*, а тем самым отсутствия каких-либо маркеров, специфичных для этого фрагмента, наконец, из-за сложности генома *Brassica*.

В этом контексте одной из основных целей изобретения является получение растений *Brassica*, преодолевающих все недостатки, приведенные выше. В частности, одной из целей является получение растений *Brassica*, содержащих укороченный фрагмент *Raphanus*, включающий аллели устойчивости к растрескиванию стручков. Такие растения *Brassica* преимущественно могут применяться для селекции, чтобы легко переносить такие аллели устойчивости к растрескиванию стручков в другие растения *Brassica* с другим генетическим фоном. В частности, одной из целей настоящего изобретения является получение растений *Brassica*, содержащих укороченный фрагмент *Raphanus*, включающий аллели устойчивости к растрескиванию стручков и восстанавливающий мужскую фертильность ген Rf0.

Другая цель изобретения заключается в том, чтобы идентифицировать новые растения *Raphanus* с устойчивостью к растрескиванию стручков, которые можно использовать при работе по селекции *Brassica*.

Следующая цель изобретения состоит в том, чтобы получить растения *Brassica*, включающие устойчивость к растрескиванию стручков из *Raphanus*, и использовать эти растения для интрогрессии устойчивости к растрескиванию стручков в растения *Brassica*, несущие фенотип устойчивости к растрескиванию стручков.

Другой целью изобретения является получение семян, гибридных растений и потомства указанных растений *Brassica*.

Изобретение также касается способов идентификации наличия данных аллелей устойчивости к рас-

трескиванию стручков в растениях Brassica, в частности подходящих маркеров, связанных (или не связанных) с указанным новым признаком устойчивости к растрескиванию стручков.

Сущность изобретения

Итак, здесь раскрыты растения Brassica, содержащие в своем геноме геномный фрагмент Raphanus, причем данный фрагмент придает фенотип устойчивости к растрескиванию стручков POSH⁺, а также характеризуется отсутствием по меньшей мере одного SNP Raphanus по меньшей мере в одном из следующих маркеров: SEQ ID NO: 4-18.

В одном конкретном воплощении данных растений Brassica геномный фрагмент Raphanus дополнительно определяется наличием по меньшей мере одного SNP Raphanus в маркерах SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 или SEQ ID NO: 21. Например, указанные SNP Raphanus отсутствуют в маркерах SEQ ID NO: 9 и SEQ ID NO: 12-18. Например, указанные SNP Raphanus отсутствуют во всех маркерах SEQ ID NO: 4-18.

В другом конкретном воплощении приведенные здесь растения Brassica дополнительно содержат аллель Fruitfull из Raphanus. Как правило, данный аллель Fruitfull из Raphanus содержит SNP Raphanus в маркере SEQ ID NO: 22.

В определенных воплощениях приведенные выше растения Brassica также содержат локус восстановления мужской фертильности Rf0 внутри фрагмента из Raphanus.

В других конкретных воплощениях приведенные выше растения Brassica содержат цитоплазму CMS Ogura.

Также здесь раскрыты гибридные растения Brassica, полученные при скрещивании растений Brassica, содержащих фрагмент из Raphanus, придающий фенотип POSH⁺, как описано выше, с другими растениями Brassica, не содержащими данного фрагмента из Raphanus, придающего фенотип POSH⁺, причем данные гибридные растения содержат геномный фрагмент из Raphanus, придающий фенотип устойчивости к растрескиванию стручков POSH⁺.

Также раскрыты семена или части растений либо потомство данных растений Brassica.

Другой приведенный здесь аспект касается способов идентификации растений Brassica POSH⁺, как описано выше, причем данные растения Brassica идентифицируются по наличию одного или нескольких SNP Raphanus по меньшей мере в одном из следующих маркеров SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21 и/или отсутствию SNP Raphanus по меньшей мере в одном из следующих маркеров: SEQ ID NO: 4-18.

В определенных воплощениях такого способа растения Brassica POSH⁺ идентифицируют по наличию аллеля Fruitfull из Raphanus, а более предпочтительно маркера Raphanus SEQ ID NO: 22.

Другой приведенный здесь аспект касается новых средств для выявления одного или нескольких SNP Raphanus в одном или нескольких из следующих маркеров: SEQ ID NO: 4-22.

Таковыми средствами, как правило, могут быть зонды или праймеры из нуклеиновых кислот или наборы праймеров либо их комбинации, к примеру один или несколько праймеров, включающих в себя любые из SEQ ID NO: 64-99, 106-108, 112-114 и 52-54.

Такие растения или семена Brassica, раскрытые здесь, пригодны для пищевого применения, предпочтительно для получения масла, и для кормового применения, предпочтительно для получения жмыха, или для селекционного применения, к примеру для применения в качестве исходных растений при селекции для улучшения агрономической ценности растений, линий, гибридов или сортов Brassica.

Также раскрыт способ получения растений Brassica POSH⁺, причем способ включает следующие стадии:

a) скрещивание первого растения Brassica с фенотипом POSH⁺ по настоящему изобретению, как описано выше, со вторым растением Brassica POSH⁻ или POSH⁺, получая при этом гибридное растение F1;

b) самоопыление или возвратное скрещивание гибридного растения F1 с указанным вторым растением Brassica POSH⁻ или POSH⁺;

c) отбор растений Brassica POSH⁺ среди растений, полученных на стадии b), необязательно используя по меньшей мере один SNP Raphanus по меньшей мере в одном из маркеров SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 или SEQ ID NO: 21; и

d) необязательно, дополнительный отбор данных растений Brassica POSH⁺ по отсутствию по меньшей мере одного из SNP Raphanus по меньшей мере в одном из маркеров SEQ ID NO: 4-18.

В определенных воплощениях такого способа второе растение Brassica POSH⁻ характеризуется отсутствием в своем геноме какого-либо фрагмента генома Raphanus.

В другом конкретном воплощении такого способа первым растением служит растение, полученное из репрезентативного образца семян, депонированных в коллекции NCIMB за номером 42444.

Также раскрыт способ получения растений Brassica POSH⁺ по настоящему изобретению, как описано выше, причем способ включает следующие стадии:

a) получение первого растения Brassica POSH⁺, содержащего интрогрессию из Raphanus, придающую признак POSH⁺, причем данная интрогрессия из Raphanus включает по меньшей мере один из SNP Raphanus в одном или нескольких из следующих маркеров: SEQ ID NO: 4-18;

b) скрещивание данного первого растения Brassica POSH⁺ со вторым растением Brassica POSH⁻ или POSH⁺, получая при этом гибридное растение F1;

c) самоопыление или возвратное скрещивание гибридного растения F1 с указанным вторым растением POSH⁻ или POSH⁺;

d) отбор растений Brassica POSH⁺ среди растений, полученных на стадии c), необязательно проводя отбор по наличию по меньшей мере одного SNP Raphanus по меньшей мере в одном из маркеров SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 или SEQ ID NO: 21 и/или, необязательно, дополнительный отбор по отсутствию по меньшей мере одного SNP Raphanus по меньшей мере в одном из маркеров SEQ ID NO: 4-18.

В определенных воплощениях вышеприведенного способа указанное первое растение Brassica POSH⁺ содержит восстанавливающий фертильность Oguга ген Rf0.

Изобретение также касается растений Brassica, получаемых или полученных вышеприведенными способами получения.

Краткое описание фигур

На фиг. 1 представлена стратегия неспецифичного для генома подхода, применявшегося для маркеров Fruitfull_H1_04.

На фиг. 2 представлена стратегия специфичного для генома подхода, применявшегося для маркеров Fruitfull_spe_01 при совмещении последовательностей Raphanus и Brassica.

На фиг. 3 показаны результаты измерения признака POSH и размера стручков различных линий или гибридов, несущих признак POSH.

На фиг. 4 показаны результаты стабильности стручков и сегрегации POSH в популяции двойных гибридов.

На фиг. 5 показано измерение стабильности стручков различных гибридов Oguга, семь гибридов являются коммерчески доступными сортами Brassica, содержащими длинный фрагмент интрогрессии Raphanus, четыре гибрида представляют собой коммерческие сорта Brassica, содержащие такой более короткий фрагмент интрогрессии Raphanus.

На фиг. 6 показаны результаты фенотипирования и генотипирования потомства F5 по сравнению с другими линиями и гибридами, а также результаты по стабильности стручков и профиля генотипа устойчивой к растрескиванию стручков рекомбинантной линии R51542141F (также называемой R42141F) и панели референсных генотипов.

На фиг. 7 показаны генотипические профили рекомбинантных линий F3 при интрогрессии Raphanus.

Раскрытие сущности изобретения

Растения Brassica.

В настоящем изобретении термин "растения Brassica" охватывает растения видов Brassica, включая *V. napus*, *V. juncea* и *V. gara*; предпочтительно *V. napus*.

В настоящем изобретении "растрескивание стручков", а также "растрескивание плодов или стручков" относится к процессу, который имеет место в плодах после созревания семян, при котором от центральной перегородки отделяются створки, высвобождая семена. Участок разрыва (т.е. зона "растрескивания") проходит по всей длине плода между створками и наружной перегородкой (внешней перегородкой). При созревании "зона растрескивания" представляет собой практически неодревесневший слой клеток между участками одревесневших клеток в створке и наружной перегородке. Растрескивание происходит вследствие разрыхления клеточной стенки в зоне растрескивания в сочетании с растяжением, обусловленным дифференциальными механическими свойствами высыхающих клеток в стручке.

Признак растрескивания стручков обычно измеряется с помощью лабораторных испытаний, имитирующих силы, действующие на стручки в естественных условиях. Существуют различные методы, как описано в Kadkol et al., 1984. Evaluation of Brassica accessions for resistance to shatter. Euphytica, 33, 61-71; Liu et al., 1994. Pendulum test for evaluation of rupture strength of seed pods. Journal of Texture Studies, 25, 179-189; или же способ, описанный в примере 3 настоящего изобретения. В этом последнем способе стручки собирают на стадии полной зрелости (BVCH97). Устойчивость к растрескиванию стручков соответствует напряжению, которое необходимо для отрыва двух створок стручка друг от друга.

В настоящем изобретении растения Brassica, у которых стручки имеют значения напряжения, большие или равные 2,3 Н, определяются как устойчивые к растрескиванию стручков. В настоящем описании они также определяются как POSH⁺, что означает присутствие участка POSH из Raphanus в геноме растений. В определенных воплощениях растения Brassica POSH⁺ должны иметь стручки с устойчивостью от 2,3 до 7 Н (единиц). Предпочтительно растения Brassica POSH⁺ должны иметь стручки с устойчивостью от 2,3 до 5 Н. В общем случае растения Brassica POSH⁺ могут представлять собой растения Brassica, содержащие в своем геноме длинную интрогрессию из генома Raphanus, или же это могут быть одни из растений Brassica по настоящему изобретению.

В настоящем изобретении растения Brassica со стручками, имеющими значения напряжения менее 2,3 Н, определяются как неустойчивые к растрескиванию стручков. В частности, напряжение у стручков должно быть выше 0,6 Н. В настоящем описании они также именуется как POSH⁻, что означает отсутст-

вие участка POSH⁺ из *Raphanus* в геноме растений. В более общем плане растения *Brassica* POSH⁺ могут быть фертильными или нет, к примеру, они могут содержать или нет восстанавливающий фертильность ген Rf0, а также могут быть стерильными или нет, к примеру, они могут содержать или нет цитоплазму *Ogura* с мужской стерильностью, а также могут быть самодостаточными или нет. Более того, данные растения *Brassica* POSH⁺ могут содержать интрогрессию из *Raphanus* или не содержать её.

В настоящем изобретении термин "аллель" означает одну из нескольких альтернативных форм гена в определенном локусе. У диплоидных (или амфидиплоидных) клеток организма аллели данного гена располагаются в определенном месте или локусе на хромосоме. В каждой хромосоме из пары гомологичных хромосом присутствует один аллель.

При упоминании "растения" или "растений" подразумевается, что это охватывает и части растений (клетки, ткани или органы, семенные стручки, семена, оторванные части типа корней, листьев, цветков, пыльцы и пр.), потомство растений, сохраняющее отличительные характеристики исходных растений (особенно устойчивость к растрескиванию стручков, связанную с фрагментом из *Raphanus*), как-то семена, полученные при самоопылении или скрещивании, например гибридные семена (полученные при скрещивании двух инбредных исходных растений), гибридные растения и происходящие из них части растений, если не указано иначе.

В настоящем изобретении "геномный фрагмент *Raphanus*" означает интрогрессию, предпочтительно исходную интрогрессию, а также любые возникающие при этом рекомбинантные фрагменты из генома *Raphanus sativa* в геноме *Brassica napus*, причем такая интрогрессия встречается во многих коммерческих сортах *Brassica*, включая, без ограничения, сорта *Albatros* или *Artoga*. Для удобства при чтении исходная интрогрессия будет определяться в дальнейшем как "длинная интрогрессия из генома *Raphanus*".

Такая длинная интрогрессия из генома *Raphanus* в геноме *Brassica napus* также включает ген Rf0 для восстановления фертильности в системе CMS *Ogura*. Эта длинная интрогрессия из *Raphanus* не может содержать фрагментов генома *Brassica napus*. Примеры коммерческих сортов *Brassica*, содержащих длинный интрогрессионный фрагмент из *Raphanus*, представлены на фиг. 5, как-то *Albatros* или *Artoga*.

Также была описана более короткая интрогрессия из генома *Raphanus* в геноме *Brassica napus*, причем данная интрогрессия включает ген Rf0 для восстановления фертильности в системе CMS *Ogura*, но теперь уже изобретатели установили, что такая более короткая интрогрессия не включает участок генома, называемый POSH⁺, придающий устойчивость к растрескиванию стручков. Примеры коммерческих сортов *Brassica*, содержащих такой более короткий интрогрессионный фрагмент из *Raphanus*, представлены на фиг. 5, к примеру *Anterra*, а также описаны в патентных заявках WO 2011/020698, WO 97/02737, WO 98/27806, WO 2005/074671 или WO 2005/074671.

В настоящем изобретении термин "интрогрессия" относится к переносу фрагмента ДНК из определенного вида, в данном случае из вида *Raphanus sativus*, в растения другого вида, в данном случае *Brassica*, более предпочтительно *Brassica napus*.

В настоящем изобретении "маркер" означает определенную последовательность ДНК, идентифицированную в геноме растения, которая может использоваться для определения того, унаследовало ли растение определенный фенотип или представляющий интерес аллель от исходного растения. Такой маркер может включать кодирующие или не кодирующие последовательности. В частности, такой маркер может содержать один или несколько однонуклеотидных полиморфизмов или SNP, идентифицированных между геномами *Raphanus* и *B. napus*. Также можно идентифицировать полиморфизмы типа делеции/вставки последовательности (indel). В настоящем изобретении не рассматривается геном *B. gara*, поэтому будет подлежать идентификации геном *B. napus*, а также геном *B. oleracea*.

В настоящем изобретении "SNPs *Raphanus*" соответствуют нуклеотидам, представленным в геноме *Raphanus* в полиморфном положении по сравнению с геномом *B. oleracea*.

В настоящем изобретении представлены SNPs *Raphanus* в маркерах (идентифицированных по их нуклеотидной последовательности) для определения в растениях *Brassica* того, сохраняется ли в каком-либо рекомбинантном фрагменте от длинной интрогрессии из *Raphanus* аллель POSH⁺, придающий устойчивость к растрескиванию стручков. Соответственно, растения *Brassica* по настоящему изобретению содержат рекомбинантный фрагмент от такой длинной интрогрессии, который предпочтительно короче, чем при длинной интрогрессии, но сохраняет по крайней мере аллель POSH⁺.

В частности, некоторые SNPs *Raphanus*, встречающиеся при указанной длинной интрогрессии из *Raphanus*, характеризуются тем, что они не связаны с аллелем POSH⁺. Такие SNP входят в число следующих 15 маркеров: SEQ ID NO: 4-18.

Соответственно, растения *Brassica* по настоящему изобретению содержат в своем геноме геномный фрагмент *Raphanus*, причем данный фрагмент придает фенотип устойчивости к растрескиванию стручков (POSH⁺), а сам фрагмент характеризуется отсутствием хотя бы одного SNP *Raphanus* по меньшей мере в одном из следующих маркеров: SEQ ID NO: 4-18.

Для каждого из этих маркеров был идентифицирован SNP *Raphanus* (см. табл. 2). Предпочтительно в указанных растениях *Brassica* отсутствуют 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или все эти SNP.

При указанной длинной интрогрессии *Raphanus* были обнаружены SNP и в других маркерах, в частности SNP *Raphanus*, которые характеризуются как связанные с аллелем POSH⁺. Такие SNP *Raphanus*

идентифицированы в последовательностях следующих трех маркеров: SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 или SEQ ID NO: 21.

В одном конкретном воплощении указанные растения Brassica содержат в своем геноме фрагмент генома Raphanus, но без участков, включающих в себя SNPs Raphanus в маркерах по SEQ ID NO: 12-18 и SEQ ID NO: 9.

В одном конкретном воплощении указанные растения Brassica содержат в своем геноме фрагмент генома Raphanus, но без участков, включающих в себя SNPs Raphanus в маркерах по SEQ ID NO: 4-18.

В другом конкретном воплощении, которое может комбинироваться с предыдущими воплощениями, указанные растения Brassica содержат по меньшей мере участки фрагмента генома Raphanus, включающие в себя 1, 2 или 3 SNPs Raphanus в следующих маркерах: SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 или SEQ ID NO: 21, причем данные SNPs приведены в табл. 1.

В качестве альтернативы в другом конкретном воплощении указанные растения Brassica содержат по меньшей мере участок фрагмента генома Raphanus, включающий аллель Fruitfull из Raphanus, который идентифицируется по следующим маркерам: SEQ ID NO: 22 или SEQ ID NO: 31.

В другом конкретном воплощении растения Brassica не являются трансгенными растениями. Трансгенными или "генетически модифицированными организмами" (ГМО) в настоящем изобретении являются организмы, у которых генетический материал был изменен с помощью методов, обычно известных как "технология рекомбинантной ДНК". Технология рекомбинантной ДНК - это способность комбинировать молекулы ДНК из разных источников в одной молекуле *ex vivo* (например, в пробирке). Эта терминология вообще не охватывает организмы, генетический состав которых был изменен путем стандартного скрещивания или селекции при помощи "мутагенеза". Таким образом, "не трансгенными" являются растения и пищевые продукты, полученные из растений, не являющихся "трансгенными" или "генетически модифицированными организмами".

Изобретение также касается гибридных растений Brassica, которые могут быть получены при скрещивании растений Brassica, полученных выше, со вторым растением. Например, гибридные растения Brassica могут быть получены при скрещивании описанных здесь растений Brassica, содержащих фрагмент из Raphanus, придающий фенотип POSH⁺, с другими растениями Brassica, не содержащими указанного фрагмента Raphanus, придающего фенотип POSH⁺, причем указанные гибридные растения содержат геномный фрагмент из Raphanus, который придает фенотип устойчивости к растрескиванию стручков POSH⁺.

Способы получения гибридных растений хорошо известны в данной области. Как правило, гибридные растения получают, предотвращая самоопыление исходных женских растений, что позволяет пыльце из исходных мужских растений оплодотворять такие женские растения и давать гибридные семена F1 на женских растениях. Самоопыление можно предотвратить путем эмаскуляции цветков на ранней стадии развития цветка. С другой стороны, можно предотвратить образование пыльцы на исходных мужских растениях, используя какую-либо форму мужской стерильности. Гибридные растения можно получить с помощью различных генетических систем, хорошо известных специалистам в данной области, таких, к примеру, как системы CMS типа системы Oguга или системы Kosena (см. Yamagashi and Bhat, 2014, *Breeding Science*, 64:38-47) либо системы MSL (Male Sterility Lembke) (Pinochet et al., 2000, *OCL-Leagineux Corps Gras Lipides*, 7:11-16). Предпочтительно гибридные растения по изобретению получают с помощью системы Oguга.

Поэтому здесь также раскрыты растения или линии Brassica по настоящему изобретению, разработанные для получения таких гибридных растений. Такие растения или линии обычно содержат генетические и/или цитоплазматические элементы, необходимые для реализации соответствующей гибридной системы. Предпочтительно эти растения или линии содержат восстанавливающий фертильность ген Rf0 и/или цитоплазму из системы Oguга.

Способ получения растений Brassica с фенотипом устойчивости к растрескиванию стручков (POSH⁺).

Настоящее изобретение также касается новых способов получения растений Brassica с фенотипом устойчивости к растрескиванию стручков (POSH⁺), которые описаны в предыдущем разделе.

В одном воплощении указанный способ включает следующие стадии:

а) получение первого растения Brassica POSH⁺, содержащего интрогрессию из Raphanus, придающую устойчивость к растрескиванию стручков POSH⁺, причем данная интрогрессия из Raphanus включает по меньшей мере один из SNP Raphanus в одном или нескольких из следующих маркеров: SEQ ID NO: 4-18;

б) скрещивание данного первого растения Brassica POSH⁺ со вторым растением Brassica POSH⁻ или POSH⁺, получая при этом гибридное растение F1;

в) самоопыление или возвратное скрещивание гибридного растения F1 с указанным вторым растением POSH⁻ или POSH⁺;

д) отбор растений Brassica POSH⁺ среди растений, полученных на стадии в), необязательно проводя отбор по наличию по меньшей мере одного SNP Raphanus по меньшей мере в одном из маркеров SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 или SEQ ID NO: 21 и/или, необязательно, дополнительный отбор по от-

сутствию по меньшей мере одного SNP Raphanus по меньшей мере в одном из маркеров SEQ ID NO: 4-18.

Преимущественно в качестве первого растения Brassica можно использовать один из известных сортов, включающий длинную или короткую интрогрессию. В конкретном воплощении второе (возвратное) растение Brassica, которое используется в приведенном выше способе, представляет собой растение Brassica, характеризующееся отсутствием какого-либо фрагмента генома Raphanus в своем геноме, т.е. это растение, в которое не попал фрагмент гена Raphanus при интрогрессии. В качестве альтернативы указанное второе растение Brassica не содержит по меньшей мере гена Rf для восстановления фертильности в системе CMS Oguга и не содержит участка устойчивости к растрескиванию стручков (POSH⁻). Этим вторым растением Brassica может быть, к примеру, растение Brassica napus дикого типа POSH⁻ без гена Rf. С другой стороны, данное второе растение может содержать короткую интрогрессию, включающую восстанавливающий фертильность Oguга ген Rf0. В другом конкретном воплощении первое растение Brassica дополнительно включает восстанавливающий фертильность Oguга ген Rf0.

На стадии с) возвратное скрещивание гибридного растения F1 с возвратным вторым растением имеет целью снижение содержания генома возвратного растения и снижение содержания генома родительского растения (содержащего интрогрессию Raphanus). Благодаря маркерам отбора, приведенным выше, можно отобрать/сохранить фенотип POSH⁺ в процессе отбора.

Заявитель депонировал образец семян раскрытого растения Brassica с указанной интрогрессией из Raphanus, придающей признак POSH⁺, в соответствии с Будапештским договором, в коллекции NCIMB за номером 42444.

Настоящее изобретение также включает в себя и предусматривает способы идентификации растений Brassica POSH⁺, как описано в предыдущем разделе, и в более общем плане способы отбора или селекции растений Brassica на присутствие или отсутствие аллеля POSH⁺, который содержится в интрогрессии из Raphanus, к примеру, в виде молекулярно-ориентированных программ. Такие способы идентификации, отбора или селекции растений Brassica включают получение одного или нескольких растений Brassica и оценку их ДНК для определения наличия или отсутствия аллеля POSH⁺, содержащегося в интрогрессии Raphanus, и/или наличия или отсутствия других аллелей или маркеров, к примеру других маркеров интрогрессии Raphanus, не связанных с аллелем POSH⁺. Такие способы могут применяться, к примеру, для определения того, какое потомство, полученное при скрещивании, содержит аллель POSH⁺, и в соответствии с этим направлять получение растений, имеющих аллель POSH⁺, в сочетании с наличием или отсутствием других желательных признаков.

В определенных воплощениях определение присутствия аллеля POSH⁺ или других маркеров включает определение наличия маркеров интрогрессии Raphanus, связанных с аллелем POSH⁺, и/или отсутствия маркеров интрогрессии Raphanus, не связанных с аллелем POSH⁺. Соответственно, растения можно идентифицировать или отбирать путем оценки их на наличие одного или нескольких индивидуальных SNP, представленных в табл. 1 для POSH⁺, и/или на отсутствие одного или нескольких индивидуальных SNP, представленных в табл. 2 для фрагментов Raphanus, не связанных с аллелем POSH⁺.

В одном конкретном воплощении также можно идентифицировать локус Rf0.

Таблица 1

SNP Raphanus, связанные с аллелем POSH⁺
(отдельные идентифицированные SNP выделены жирным шрифтом)

SEQ ID	Последовательность
No. 19	TAGAGCTGAAGCTAGGTATAGGAGGCACATCATAYAAAGATTTCAATCAAAGC СТТСАТСТАССАТГААТТГАТГААГАТАГАССААТАГАТАСГТССТТСТС GGAGGAGCTGTTGGTGTGATCTCRGCKYTGATGGTWGTWGAAGTCAACAACGT GAAGCAGCAAGAGCACAAGAGATGCAAATACTGTCTAGGAA
No. 20	TTAAGAACTGTGTCACTGACATTGACCCTGAGAGGGAGAAGGAGAAGAGAGAA AGGATGGAAAGCCAAAACCTCAAGGCTAGTACAAAGCTGAGTCAAGCGAGGG AGAAAATCAAGCGCAAGTATCCACTTCTGTTGCAAGGAGRCAACTYTCCACTG GRTACNTGGAAGATGCTCTCGAAGAGGATGAAGAGACAGACC
No. 21	GCTCAGGTAGATCTCCCACGGGTTGGGGAAGAGGATCCGGATATGGGTATGGG TCTGGATCTGGATCAGGTAGCGGATATGGGTACGGTTCGGAGGTGGAGGAGS ACGTGGTGGTGGGTATGGTTATGGAAGCGGAAATGGTCCGGTCTGGAGGWGGT GTGGTGGCTCTAATGGTGAAGTTGCGGCTTTGGGCCACGGTG
No. 22	GGGAGAGAGAGGAAACCTGGAGGATGTTACGCAGTACTGGGGCTGAAGAAGCTG AAGAATTGTTGGAGCATTGGATTAATTGCTCTCKTGCTGACCCGTCTCTCT

Таблица 2

SNP *Raphanus*, связанные с фрагментами из *Raphanus* без аллеля POSH⁺

SEQ ID	Последовательность
No. 18	AGAAGATGGAGTTCTTGATGTTTATCTYCATCGGGTTTTGAARCCCGTGGGT TGTTCTGGTTGGATAACTTCTACTGCGCTAGTGACGTGAAGAAGAAAGAGCTGA CGCGTTTGATYAGAGGTTTGGGTATAAGAAGCTGAAATGGGTATTGGAGAG AAGGCTGATGGGCAAGTGWATCTCTCTGCTGTTCTKCAA
No. 17	CACAACATGCCGGTGATTGGTATCCAGCTGACCTTGGATCCAACGATTTCAAAG GTCTCTATGGATATAAGGTCTTTATTGCCATTGCCATTATCCTTGGGGACGGTCT CTACAATCTTGTCAAGATCATTGCTGTCAGTGTGAAGGAATTATGCAGCAATAG CTCTAGACACCTCAATCTACCCGTTGTRCCAACGTTG
No. 16	ACTTTGTTGAYAGYCTTACMGGAGTAGGACTTGTGATCAAATGGGAACTTCT TTCGAAAACGCTCTTGTGTTGTGGCTGTAGCTGGAGTCTTTTCATTGCAAGAA CGAAGATTTAGATAAGCTCAAGGGTCTRWYGAAGAGACGACGYTRTATGACA AGCARTGGCAAGCGCTTGGAAAGAGCCGGAATAATCA
No. 15	GTCCATGTTTGATGCAATTGTATCAGCAGACGCATTTGAGAACTTGAAACCAGC GTGATATTTCTAGTTTGTCAACAGAGAAAACGACAGAGGAGGCTTTAGAGAAA CTAAATGGTTCTGTAATTGGAACAAACCGTTTCGCTTTTCMTGGGGTCGTAAY CAAGGCAAYAAACAGCTTCGAGGTGGGTATGG
No. 14	CTTTTGCTGGTTTTGGTGAATAGTATCTGTCAAGATACCAGTTGGGAAAGGAT TGGATTCATTCAGTTTGTCAACAGAGAAAACGACAGAGGAGGCTTTAGAGAAA CTAAATGGTTCTGTAATTGGAACAAACCGTTTCGCTTTTCMTGGGGTCGTAAY CAAGGCAAYAAACAGCTTCGAGGTGGGTATGG
No. 13	CTAAGGCAATGAAGTACCTGTCAATAGGTGAAGAAGACGATATATCATGGTCA CTTATCAAAGCTGCCTTCTTTCAGTAGCTCAAACCGCAATCATACCAATGCAA GACATTTCTCGGWCTYGGAAAGTTCTGCCAGGATGAACACTCCAGCCACTGAGGT GGGAACTGGGGTTGGAGGATCCGAGTTCAACGAACTTTG
No. 12	TGGCCCTGAAGGTTCTACAGTGCTTCAATTATAGACAACTTCAACTTCTGCTTC TATTGGGAAAATCAGTTGCAAGGTGACTATTGCAAAGAAGACGAAAGTTTGTCT GTACCAGTCTGTTCAAGTTGAGGTACCTTTCAAGRTGGAATCAGAARKRTCTYC TTCYAGGTGATCGCATTACCGTTAAACCTAGAGCAT
No. 11	TCAAGGACTTTGGTGATAGTATTCCAGGACATGGTGGAACTACTGATAGAATGG ACTGCCAGATGGTAATGGCAGTATTGCTTACATATATCTCCAGTCTTTATCGT CTCCAAAGCGTTTCGGTTGACAAAATCCTGGACCAGATATTGACGAACCTTAG CTTCGAGGAACAACAAGCTCTTCTACTAGATTAGGGC
No. 10	CTCCTCKCCGAATCCGTTTGGGGAYGCGTTCAAGGGGCCMGAGATGTGGGCS AAGCTGACGGCGGATCCGTCGACGAGGGGGTTCTGAAGCAGCCTGACTTCGT AACATGATGCAGGAGATCCAGAGGAACCTAGCAGTCTCAATCTCTACTTGAA GGACCAGAGGGTGTGACAGTCTCTYGGGGTTTTGTTGAATG
No. 9	AGTATGAAGAAGAGGGYAGTATGAGAGAGGTGGGTGCAAGCAGAGGAGAGG AGAGTCAGAGGAAGGKCATGGRTACTACGAAGGGCGTAGTAGACGTTCAAGCC ATTATGAGCGTGAGGAGGAACAAGGAGGTGASCAAGACCGKTAGCAYGACCGT TATGGGAGAGTGGAGGAAGAATAACCGTTATGATGATCGTG
No. 8	TCAAGAAGACTTACCAACAGTCCAGCTTACAGCATGGACATTTTCCCATTTG TGGGATGGGTAAYTACAAGTATGTGCCACTGCACTTCCGGGTATCTTGCACA GCCTCGTYGCATTTCTTGGGGAATCTTCTGACCCTGCGAGCAAGGTCAATGA CACTAGCTTTGGCAAAGGCTAAGTGATCAGGGAAACACA
No. 7	CTAGTTTACAGGAATGGTTTRCAGAAGGTTGAATTGATGAAGACGAGAGCTTCT TCATCAGACGAGACCTCAACGTCCATTGACACCAACGAACCTTTACWGACTTG AAGGAAAAGTGGGATGGTCTTGTGAGAACAAARACRACYGTGGTTATCTAYGGAGG AGGAGCCATTGTWGTGTTTGGTTATCTTCCATTCTTGTT
No. 6	GAAGTGTCTGGACACAGCTGAGAAAAGCCACGAAGGGGATATCACATGCATT TCGTGGGCACCAAGGCAATGACAGTTGGGGAGAGAAAGCGCAGGTATTAGC GACAGCAGGGGTTGACAARAAAGTGAAGCTGTGGGAAGCTCCAAMGTTGCACT CTGTGTAGACTTGTACTGCTGCTGCAATACAAAAGAAAGTCT
No. 5	TAAAGTATACTCGAAATGGCCCAAATCTCACTCTTTCAAGATCGGGCAGTCCCT CTTGTCTTGTACCCACCAAGCGAAGATTCAATGATTCAAGTGACACCTTCCAA CTTCAAGAGCTGCAACACCAAAAGATCCGATCTTGTACATGAACGACGGCAACT TCTTCAACCTCACCAAAAACGGAACCTTTACTTCAC
No. 4	TCAGACTATCCAGATAAAGAAGAACAATACTCATCTTCTGTGCACTTATGG TACAAACTCCTCAGGTACAGCWGAACGCACAGGTTTGGCACTGAAACAGCC GAGCTCCCTGCGCAAGAAGGAGAAAGAGTGACAATTGCATCTGCTGCTCCATC AGATGTTTACAGACAAGTGGGACCTTTCAAGTTACCCCA

Определенные SNP *Raphanus* в каждой из вышеприведенных последовательностей маркеров в табл. 1 и 2 выделены жирным шрифтом. Конечно, специалисты могут использовать и другие SNP *Raphanus*, идентифицированные в вышеуказанных маркерах, представленных в табл. 1 и 2. Некоторые из этих SNPs в вышеприведенных последовательностях обозначены по кодировке IUPAC.

В более общем плане здесь раскрыты конкретные средства для выявления аллеля POSH⁺ при интродукции *Raphanus* в растениях, более конкретно в растениях Brassica.

Так, указанные средства включают любые средства, подходящие для выявления следующих маркеров SNP *Raphanus* в одном или нескольких из следующих маркеров: SEQ ID NO: 4-22.

Для оценки наличия или отсутствия SNP можно использовать любые известные в данной области методы. Некоторые подходящие методы включают, без ограничения, секвенирование, гибридизационные методы, полимеразные цепные реакции (ПЦР), лигазные цепные реакции (LCR) и генотипирование по

последовательности (GBS) либо их комбинации.

Специалистам в данной области доступны различные методы на основе ПЦР. Можно использовать метод RT-PCR или метод Kaspar фирмы KBioscience (LGC Group, Teddington, Middlesex, UK).

В системе генотипирования KASP™ используются три специфичных к мишени праймера: два праймера, каждый из которых специфичен для каждой аллельной формы SNP (однонуклеотидного полиморфизма), и еще один праймер для проведения обратной амплификации, который является общим для обеих аллельных форм. Каждый специфичный к мишени праймер также содержит хвостовую последовательность, которая соответствует одному из двух зондов для FRET: один помечен красителем FAM®, а другой - красителем HEX®.

Проводятся последовательные реакции ПЦР, причем последняя заключается в амплификации зондов. Характер излучаемой флуоресценции используется для идентификации аллельной формы или форм, присутствующих в смеси от исследуемой ДНК.

Для системы генотипирования KASP™ особенно подходят праймеры, приведенные в табл. 3. Конечно, специалисты могут использовать и другие варианты праймеров или зондов из нуклеиновых кислот, приведенных в табл. 3, причем данные варианты праймеров или зондов из нуклеиновых кислот должны быть по меньшей мере на 90%, а предпочтительно на 95% идентичны по последовательности каким-либо праймерам, приведенным в табл. 3, или геномным фрагментам ДНК, амплифицированным с помощью соответствующих наборов праймеров, приведенных в табл. 3.

Степень идентичности последовательностей в настоящем изобретении определяется путем вычисления количества совпадающих положений при совмещении последовательностей нуклеиновых кислот, деления числа совпадающих положений на общее количество совмещенных нуклеотидов и умножения на 100. Совпадающее положение означает такое положение, в котором при совмещении последовательностей нуклеиновых кислот в одном и том же положении находятся идентичные нуклеотиды. Например, совмещение последовательностей нуклеиновых кислот может проводиться с помощью программы BLAST для 2 последовательностей (B12seq) с использованием алгоритмов BLASTN (www.ncbi.nlm.nih.gov).

В настоящем изобретении праймер означает такую нуклеиновую кислоту, которая способна направлять синтез образующейся нуклеиновой кислоты в зависящем от матрицы процессе типа ПЦР. Как правило, праймеры представляют собой олигонуклеотиды из 10-30 нуклеотидов, но можно использовать и более длинные последовательности. Праймеры могут быть представлены в двухцепочечной форме, хотя предпочтительна одноцепочечная форма. С другой стороны, можно использовать зонд из нуклеиновой кислоты. Зонд из нуклеиновой кислоты означает такую нуклеиновую кислоту по меньшей мере из 30 нуклеотидов, которая может специфически гибридизироваться в стандартных строгих условиях с заданной нуклеиновой кислотой. Стандартные строгие условия в настоящем изобретении относятся к условиям гибридизации, описанным, к примеру, в Sambrook et al. 1989, которые могут включать 1) иммобилизацию фрагментов геномной ДНК растений или библиотечной ДНК на фильтре, 2) предварительную гибридизацию фильтра в течение 1-2 ч при 65°C в 6×SSC с 5× реагентом Денхардта, 0,5% SDS и 20 мг/мл денатурированной несущей ДНК, 3) добавление зонда (меченого), 4) инкубацию в течение 16-24 ч, 5) отмывку фильтра один раз в течение 30 мин при 68°C в 6×SSC, 0,1% SDS, 6) промывку фильтра три раза (два раза по 30 мин в 30 мл и один раз в течение 10 мин в 500 мл) при 68°C в 2×SSC с 0,1% SDS.

В определенных воплощениях указанные праймеры для выявления SNP-маркеров по настоящему изобретению представлены в следующей таблице.

Таблица 3

Праймеры для выявления SNP-маркеров *Raphanus* по изобретению
(указанные в названиях праймеров)

SEQ ID	Нуклеотидная последовательность	Название праймера
64	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCGAAGGGCGTAGTAGACGTTCA	SEQ ID NO:9 A1
65	GAAGGTGCGGAGTCAACGGATTGAAGGGCGTAGTAGACGTTCCG	SEQ ID NO:9 A2
66	CCTTGTTCCCTCCTCAGCTCATAAT	SEQ ID NO:9 C
67	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCCAATGCACTTCCGGGTCATA	SEQ ID NO:8 A1
68	GAAGGTGCGGAGTCAACGGATTCCAATGCACTTCCGGGTCATC	SEQ ID NO:8 A2
69	GAAGAATGCGACGAGGCTGTGCAA	SEQ ID NO:8 C
70	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTAGAGAAAACGCAGAGGAGGCTTTA	SEQ ID NO:14 A1
71	GAAGGTGCGGAGTCAACGGATTGAGAAAACGCAGAGGAGGCTTTG	SEQ ID NO:14 A2
72	GCGAACGGTTTTGTTTTCCAATTACAGAA	SEQ ID NO:14 C
73	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCAAGTAGACCCAATAGTAGCGTCA	SEQ ID NO:19 A1
74	GAAGGTGCGGAGTCAACGGATTAAAGTAGACCCAATAGTAGCGTCC	SEQ ID NO:19 A2
75	ACCATCAACGCTGAGATCACACCAA	SEQ ID NO:19 C
76	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGGTACGGTTCGGGAGGTGGA	SEQ ID NO:21 A1
77	GAAGGTGCGGAGTCAACGGATTGTACGGTTCGGGAGGTGGC	SEQ ID NO:21 A2
78	CGACCATTTCCGCTTCCATAACCAT	SEQ ID NO:21 C
79	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTAGTACAAAGCTGAGTCAAGCA	SEQ ID NO:20 A1
80	GAAGGTGCGGAGTCAACGGATTCTAGTACAAAGCTGAGTCAAGCG	SEQ ID NO:20 A2
81	CAGGAAGTGGATACTTGGCTTGGT	SEQ ID NO:20 C
82	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTTATTGCCATTGCCATTATCCTTGGA	SEQ ID NO:17 A1
83	GAAGGTGCGGAGTCAACGGATTATTGCCATTGCCATTATCCTTGGG	SEQ ID NO:17 A2
84	GTGACAGCAATGATCTTGACAAGATTGTA	SEQ ID NO:17 C
85	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTAAGGTGTACTATTGCAAAGAAGACGAA	SEQ ID NO:12 A1
86	GAAGGTGCGGAGTCAACGGATTGGTGTACTATTGCAAAGAAGACGAG	SEQ ID NO:12 A2
87	TCAAATGAAACAGACTGGTACAAGCAA	SEQ ID NO:12 C
88	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGGGAGAGAAAAGGCGCAGGTA	SEQ ID NO:6 A1
89	GAAGGTGCGGAGTCAACGGATTGGGAGAGAAAAGGCGCAGGTT	SEQ ID NO:6 A2
90	TTTTGTCAACCCCTGCTGTGCTAA	SEQ ID NO:6 C
91	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCAAGATCTTGGGTGTGCCACAA	SEQ ID NO:15 A1
92	GAAGGTGCGGAGTCAACGGATTCAAGATCTTGGGTGTGCCACAT	SEQ ID NO:15 A2
93	CTCCAGCAAGTGCATCTTCAATAACAATA	SEQ ID NO:15 C
94	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCGAAGATTCAATGATTCAAGTGACAC	SEQ ID NO:5 A1
95	GAAGGTGCGGAGTCAACGGATTGCAAGATTCAATGATTCAAGTGACAG	SEQ ID NO:5 A2
96	GGTGTGACAGCTCTTGAAGTTGGAA	SEQ ID NO:5 C
97	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGTAGCTGGAGTTCTTTTCATC	SEQ ID NO:16 A1
98	GAAGGTGCGGAGTCAACGGATTGGCTGTAGCTGGAGTTCTTTTCATT	SEQ ID NO:16 A2
99	CCCTTGAGCTTATCTAAATCTTCGTTCTT	SEQ ID NO:16 C
100	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTAGTAGCTCAAACCGCAATCATACCA	SEQ ID NO:13 A1
101	GAAGGTGCGGAGTCAACGGATTAGCTCAAACCGCAATCATACCG	SEQ ID NO:13 A2
102	TTCCGAGACCGAGAATGTCTTGCAT	SEQ ID NO:13 C
103	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCAGTATTGCTTACATATATCTCCAGTCA	SEQ ID NO:11 A1
104	GAAGGTGCGGAGTCAACGGATTGTATTGCTTACATATATCTCCAGTCC	SEQ ID NO:11 A2
105	CCGAAACGCTTGGGAGACGATAAA	SEQ ID NO:11 C
106	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGGGTCTTGAAGCAGCCTGAC	SEQ ID NO:10 A1
107	GAAGGTGCGGAGTCAACGGATTGGGGTCTTGAAGCAGCCTGAT	SEQ ID NO:10 A2
108	GGATCTCCTGCATCATGTTGACGAA	SEQ ID NO:10 C
109	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGAACGCACAGGTTTCCACTGAA	SEQ ID NO:4 A1
110	GAAGGTGCGGAGTCAACGGATTAAACGCACAGGTTTCCACTGAG	SEQ ID NO:4 A2
111	AGATGCAATTGCTACTCTTCTCCTTCTT	SEQ ID NO:4 C
112	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTCCATTGACACCAACGAACTCTTTAA	SEQ ID NO:7 A1
113	GAAGGTGCGGAGTCAACGGATTCCATTGACACCAACGAACTCTTTAC	SEQ ID NO:7 A2
114	GTCTTGTCTCAAGACCATCCACTT	SEQ ID NO:7 C
115	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGCCTAGTGACGTGAAGAAGAAA	SEQ ID NO:18 A1
116	GAAGGTGCGGAGTCAACGGATTGCGCTAGTGACGTGAAGAAGAAG	SEQ ID NO:18 A2
117	GCTTCTTATACCAAACCTCTCAATCAA	SEQ ID NO:18 C

Применение растений Brassica по изобретению.

Растения Brassica настоящего изобретения могут применяться для селекционных работ. В настоящем изобретении работы по селекции охватывают селекцию семенного материала для улучшения агрономической ценности растений, линий, гибридов или сортов. В конкретном воплощении это относится к работам по возвратному скрещиванию с целью создания новых рекомбинантных линий в представляющем интересе участке генома или для интрогрессии такого участка в другие растения, не содержащие такого участка. Как правило, в настоящем изобретении растения Brassica применяются для интрогрессии участка из *Raphanus*, придающего фенотип POSH⁺, в другие растения.

Соответственно, далее изложен способ получения растений Brassica POSH⁺, причем способ включает следующие стадии:

- а) скрещивание первого растения Brassica, как описано в предыдущем разделе, со вторым растением Brassica POSH⁻ или POSH⁺, получая при этом гибридное растение F1;
- б) самоопыление или возвратное скрещивание данного гибридного растения F1 с указанным вторым растением Brassica POSH⁻ или POSH⁺;
- в) отбор растений Brassica POSH⁺ среди растений, полученных на стадии б), необязательно используя по меньшей мере один SNP *Raphanus* по меньшей мере в одном из маркеров SEQ ID NO: 19,

SEQ ID NO: 20 или SEQ ID NO: 21; и

d) необязательно, дополнительный отбор данных растений Brassica POSH⁺ по отсутствию по меньшей мере одного из SNP Raphanus по меньшей мере в одном из маркеров SEQ ID NO: 4-18.

В одном конкретном воплощении первым растением, которое используется в вышеизложенном способе, служит растение, полученное из репрезентативного образца семян, депонированных 27 июля 2015 г. в коллекции NCIMB под номером доступа 42444, полученных из Brassica napus R42141F, как описано ниже в примере 5.

Также частью настоящего изобретения являются растения Brassica, получаемые или полученные изложенными способами получения растений Brassica с фенотипом POSH⁺.

Раскрытые здесь растения Brassica также применимы, к примеру, для получения масла каноло. Семена, собранные из описанных здесь растений, можно использовать для получения неочищенного масла каноло или очищенного, отбеленного, дезодорированного (RBD) масла каноло. Собранные семена канолы можно раздробить известными в данной области методами. Семена можно довести до кондиции, рассыпая на них воду, чтобы повысить влажность, к примеру, до 8,5%. Доведенные до кондиции семена можно размельчить с помощью гладких валцов с зазором, к примеру, от 0,23 до 0,27 мм. Мятка может быть подвергнута тепловой обработке для дезактивации ферментов, облегчения дальнейшего разрушения клеток, слипания масляных капель или агломерации белковых частиц с тем, чтобы облегчить процесс экстракции. Как правило, масло извлекают из нагретой мятки канолы с помощью шнекового пресса, отжимая из нее большую часть масла. Полученные выжимки содержат некоторое количество остаточного масла.

Неочищенное масло, полученное при операции прессования, обычно пропускают через осадительный резервуар с проволочной щелевой сливной крышкой, чтобы удалить твердые вещества, отжатые вместе с маслом при работе шнека. Осветленное масло можно пропустить через рамный фильтр-пресс для удаления мелких твердых частиц. Выжимки, полученные при операции шнекового прессования, можно экстрагировать коммерческим n-гексаном. Масло канолы, извлеченное при экстракции, объединяют с осветленным маслом от операции шнекового прессования, получая смешанное неочищенное масло.

Растения Brassica или их масло также применимы в качестве пищевых композиций для человека или животных. Масло также может применяться в биотопливе.

Примеры

Пример 1. Создание новых рекомбинантных растений Brassica.

Brassica napus - относительно молодая культура, которая все еще проявляет некоторые характеристики дикого вида. Одной из этих характеристик является тенденция к растрескиванию стручков во время сбора урожая. Было показано, что некоторые гибриды Ogura B. napus обладают гораздо лучшей устойчивостью к растрескиванию стручков. Для того чтобы изучить этот признак и получить новые рекомбинантные линии, в январе 2011 г. было проведено 204 скрещивания. При этом мужские растения Ogura и гибридные с первоначальной интрогрессией Raphanus, несущей устойчивость к растрескиванию стручков, скрещивали с мужскими растениями Ogura с укороченными интрогрессиями Raphanus или с инбредными линиями, не содержащими интрогрессии Raphanus. Кроме того, мужские растения Ogura с укороченными интрогрессиями Raphanus скрещивали с инбредными линиями, не содержащими интрогрессии Raphanus. В ноябре 2011 г. полученные растения F2 подвергали генотипированию с помощью SNP-маркеров, располагающихся на C09 и фланкирующих интрогрессию Raphanus. Один SNP-маркер фланкирует интрогрессию Raphanus в теломерной области, а четыре других SNP-маркера фланкируют интрогрессию Raphanus в центромерной области.

Следовательно, все комбинации маркерных профилей теломерных и центромерных SNP-маркеров, которые отсутствовали у родителей при соответствующем скрещивании, указывают на рекомбинацию между этими маркерами, а тем самым, вероятно, в пределах интрогрессии Raphanus, располагающейся между этими маркерами. При таком подходе из 11770 растений F2 было идентифицировано 62 потенциальных рекомбинантных растения. Такой скрининг повторяли в 2013, 2014 и 2015 гг. Самоопыленные семена от всех 62 потенциальных рекомбинантов из 2012 г. высевали в виде F3 для проверки результатов по растениям F2. Растения F3 снова подвергали анализу с помощью теломерных и центромерных SNP-маркеров, фланкирующих интрогрессию, а также SNP-маркеров BnRfo5 (представленных как SEQ ID NO: 1) и SSR-маркеров C08 и Boljon (представленных как SEQ ID NO: 2), расположенных на интрогрессии Raphanus. Линии F3, у которых была подтверждена рекомбинация, продолжали до F4.

Пример 2. Разработка новых маркеров.

Изучение новых рекомбинантных растений с помощью молекулярных маркеров весьма затруднительно. Так, с одной стороны, интрогрессия заменила часть генома Brassica napus, и трудно найти маркеры, которые работают как у Raphanus, так и B. napus. Кроме того, из-за низкого уровня рекомбинации в этом участке невозможно картировать положение маркеров на участке интрогрессии по сцеплению. Поэтому возможности описания интрогрессии были весьма ограничены. Чтобы решить проблему выявления SNP, мы использовали подход на основе секвенирования типа Next Generation Sequencing (NGS) на транскриптом вегетативной ткани.

В частности, брали образцы из 118 фиксированных восстанавливающих линий и 27 фиксированных женских линий через 4 недели после стадии прорастания и быстро замораживали их при подготовке к экстракции РНК. В каждом комбинированном образце измеряли концентрацию РНК, используя по 1 мкл каждого образца РНК на флуорометре Qubit (Invitrogen). Для преобразования тотальной РНК в библиотеку матричных молекул, пригодных для высокопроизводительного секвенирования ДНК для последующего создания кластеров, использовали текущую версию набора mRNA-Seq фирмы Illumina в соответствии с протоколом изготовителя. Библиотеки готовили из 5 мкг тотальной РНК, при этом количественное определение и оценку качества проводили путем пропускания 1 мкл библиотеки на Agilent DNA 1000 LabChip (Bioanalyzer 2100, Agilent Technology). Библиотеки мультиплексировали по две на каждую дорожку, наносили на прибор Illumina HiSeq2000, следуя инструкциям производителя, и выполняли 100 циклов (одностороннее считывание), получая не менее 2,0 Гбит последовательности на 1 образец.

Для разработки маркеров по изобретению, применимых для идентификации новых рекомбинантных линий, проводили совмещение исходных последовательностей и выявление SNP по всему комплекту линий с помощью скриптов MAQ (Li et al., Genome Research, 18:1851-1858, 2008) и Perl (Trick et al., Plant Biotech J. 7:334, 2009; Bancroft et al., 2011).

По 143 линиям OSR, для которых были получены данные по последовательности, в среднем $1,59 \times 10^7$ прочтений последовательностей по 100 оснований (1,59 Гбит данных о последовательностях) сопоставляли с 50,4 Мбит референтных последовательностей, что дает 31,5-кратный охват. В результате получили набор данных по маркерам, содержащий 84022 простых SNP (28402 после удаления таковых с небольшой частотой аллелей менее 5%) и 119523 полу-SNP (80100 после удаления таковых с небольшой частотой аллелей менее 5%). Преимущество простых SNP состоит в том, что эти маркеры с большей уверенностью можно отнести к одному из двух геномов масличного рапса, чем маркеры типа полу-SNP. Анализ проводился с целью идентификации SNP-маркеров, связанных с обозначением линий как мужские родительские (MP) или женские родительские (FP). Было идентифицировано 169 маркеров, которые полностью разграничивали эти типы. Все 169 маркеров имели общие характеристики аллеля, включающие неоднозначный код (т.е. означающий наличие двух оснований) для линий MP и определенное основание для линий FP, что согласуется с добавлением дополнительного геномного сегмента (т.е. того, который связан с восстанавливающим CMS локусом из редиса). Маркеры группировались преимущественно в двух парах гомологичных участков на группах сцепления A9 и C9, а несколько в участках, паралогичных этим.

Авторы изобретения разработали около 550 новых SNP-маркеров, специфичных для интрогрессии *Raphanus*. При сопоставлении этих SNP с геномом *B. oleracea* при помощи BLAST был сделан вывод, что специфические маркеры для интрогрессии *Raphanus* охватывают около 24 М.п.о. (длина интрогрессии *Raphanus*), что составляет около 50% хромосомы C09.

Более того, авторы изобретения идентифицировали большое количество маркеров, которые функциональны в исходном *B. napus*, но отсутствуют в восстанавливающих линиях *Ogura*. При сопоставлении их с геномом *B. oleracea* при помощи BLAST оказалось, что эти маркеры опять же охватывают около 24 М.п.о. (утраченный сегмент хромосомы *B. napus*). Это также подтверждается результатами по матрице Illumina 50k Chip, где маркеры также отсутствовали в материале с восстанавливающим геном, охватывающем фрагмент ок. 22 М.п.о.

Эти результаты четко показывают, что одно плечо хромосомы C09 было заменено одним плечом хромосомы *Raphanus*, когда возникла интрогрессия *Ogura*.

Пример 3. Характеристика фенотипа новых рекомбинантных линий.

Стойкость стручков можно измерить с помощью теста, разработанного Dr. Schulz в Institute LFA-Mecklenburg-Vorpommern, который описан в марте 2013 г. в Abschlussbericht 2013, Forschungsnummer 1/29, im Forschungskomplex: Verfahrensoptimierung zur Verbesserung der Wirtschaftlichkeit (http://www.landwirtschaft-mv.de/cms2/LFA_prod/LFA/content/de/Fachinformationen/Acker_und_Pflanzenbau/Winterraps/Produktionstechnik/AB_Platzfestigkeit_2013/Online_Forschungsbericht_Platzfestigkeit_1_29.pdf). Стручки отбирают на стадии полной зрелости (BBCH 97) из средней части главного стебля. После отбора образцов стручки выдерживают в сухих условиях при комнатной температуре не менее 21 дня, чтобы обеспечить полную зрелость всех стручков. В этом тесте измеряемым параметром устойчивости к растрескиванию стручков служит напряжение, при котором две половины стручка отрываются друг от друга. Для измерения использовали прибор Sauter Digital Force Gauge FK 50. Измерения проводили на 20 отдельных стручках из каждого генотипа и рассчитывали среднее из 20 измерений.

Примеры результатов этих измерений, проведенных с различными линиями или гибридами, приведены в табл. 4 и 5. Из таблиц четко видно, что повышение устойчивости к растрескиванию стручков ограничивается некоторыми линиями *Ogura* с восстанавливающим геном и гибридами с длинной интрогрессией из *Raphanus sativus*, поэтому можно сделать вывод, что повышение устойчивости к растрескиванию стручков кодируется из интрогрессии *Raphanus*.

Результаты по устойчивости стручков и профилю генотипа
у комплекта генотипов из урожая 2013 г.

Генотип	Тип	Стой- кость струч- ков (N)	SEQIDNO:3	CMS			Интрогрессия Raphanus											Область POSH				
				Интрогрессия Raphanus	Восстан. gen	Восстан. gen	SEQIDNO:4	SEQIDNO:5	SEQIDNO:6	SEQIDNO:7	SEQIDNO:8	SEQIDNO:9	SEQIDNO:10	SEQIDNO:11	SEQIDNO:12	SEQIDNO:13	SEQIDNO:14	SEQIDNO:15	SEQIDNO:16	SEQIDNO:17	SEQIDNO:18	SEQIDNO:19
R613 7251-DB	восстан.	6,1	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
R613 7251-DA	восстан.	6,1	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
R613 7063-DA	восстан.	5,8	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
R613 7063-AA	восстан.	5,7	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
R813 7003-BDAD	восстан.	5,6	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
R813 7569-DA	восстан.	5,6	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
R13 4515B16-34	восстан.	5,6	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
R813 7657-AAAA	восстан.	5,5	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
R813 7011-AAAA	восстан.	5,4	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
R813 7569-DABA	восстан.	5,4	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
R813 7050-CBAD	восстан.	5,4	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
R813 7569-AACD	восстан.	5,4	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
R913 7222-ABAD	восстан.	5,3	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
R13 4513CAA-29	восстан.	5,3	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
R513 7684-D	восстан.	5,2	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
R813 7008-AA	восстан.	5,1	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
R4136366	восстан.	5,1	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
R913 7222-ABAD	восстан.	5,1	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
R813 7008-AACD	восстан.	5,0	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
R513 7675-D	восстан.	4,9	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
R513 7964-B	восстан.	4,8	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
R613 7215-CM	восстан.	4,8	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
FOCTD176A	восстан.	4,3	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
R913 7222-ABAD	восстан.	4,2	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
R4136363	восстан.	4,2	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
R4136495	восстан.	4,2	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
R513 7703-A	восстан.	4,2	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
R4136493	восстан.	4,1	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
R813 7297-BCCA	восстан.	4,0	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
Arsenal			TT:TT																			
R613 7247-CA	восстан.	2,1	TT:TT		C:C		A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C
R513 7236-D	восстан.	2,1	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C
FOCTD907	восстан.	2,0	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C
R513 7448-A	восстан.	1,9	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	A:A	A:A	C:C

R513 7439-B	восстан.	1,4	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	A:A	A:A	C:C	
RD165-112-21 (12)	восстан.	1,4	TT:TT				A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R81340103-AAAC	восстан.	1,4	TT:TT					C:C		G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R513 7885-C	восстан.	1,4	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R613 7248-AB	восстан.	1,4	TT:TT				A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R513 7806-A	восстан.	1,3	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R913 7222-ABAA	восстан.	1,3	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
RD165-112-11	восстан.	1,3	TT:TT				A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R513 7054-A	восстан.	1,2	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
NC 11-1092A	невосстан.	1,2	G:G	G:G	G:G	G:G	T:T	A:A	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R913 7222-ABAA	восстан.	1,2	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
RD165-116-1	восстан.	1,2	TT:TT				A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R513 7054-B	восстан.	1,2	TT:TT				A:A	C:C		G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R13 7631EDA-B23	восстан.	1,1	TT:TT				A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R813 7142-AAAC	восстан.	1,1	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
LE11/226		1,1	TT:TT																		A:A	A:A	C:C
R913 7631-BDBA	восстан.	1,1	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
NC 11-1094B	невосстан.	1,1	G:G	G:G	G:G	G:G	T:T	A:A	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
H09D024-114	невосстан.	1,0	G:G	G:G	G:G	G:G	T:T	A:A	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R913 7074-BCBA	восстан.	1,0	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R813 7546-AABC	восстан.	1,0	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R91340111-BABAA	восстан.	0,9	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R91340156-ACACB	восстан.	0,9	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	MD	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	A:A	A:A	C:C	
R913 7074-BCBD	восстан.	0,9	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R81340100-BCBB	восстан.	0,8	TT:TT					C:C		G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R91340156-AABBB	восстан.	0,7	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	MD	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	A:A	A:A	C:C	
R613 7565-DA	восстан.	0,7	TT:TT				A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R513 41108B	восстан.	0,7	TT:TT					-		G:G			G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R81340100-BBCA	восстан.	0,7	TT:TT					C:C		G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R81340103-AACC	восстан.	0,6	TT:TT					C:C		G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	

Данные аллели представлены названиями аллелей из генома *Raphanus* и *V. oleracea*, не учитывая аллели из генома *V. гара*. Черный цвет означает присутствие генома *Raphanus*, белый цвет означает присутствие генома *V. oleracea*, а серый - присутствие обоих геномов.

Результаты по устойчивости стручков и профилю генотипа у комплекта генотипов из урожая 2014 г.

Генотип	Тип	Стой- кость струч- ков (N)	Интрогрессия Raphanus				Интрогрессия Raphanus														Область POSH		
			SEQIDNO:3	SEQIDNO:4	SEQIDNO:5	SEQIDNO:1	SEQIDNO:6	SEQIDNO:7	SEQIDNO:8	SEQIDNO:9	SEQIDNO:10	SEQIDNO:11	SEQIDNO:12	SEQIDNO:13	SEQIDNO:14	SEQIDNO:15	SEQIDNO:16	SEQIDNO:17	SEQIDNO:18	SEQIDNO:19	SEQIDNO:20	SEQIDNO:21	
R714 7251-CDB	восстан.	5,0	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A	
H12D0361-406	восстан.	4,9	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A	
R10147222ABADE	восстан.	4,7	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A	
R914 7569-ABDAA	восстан.	4,5	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A	
H12D0206-40	восстан.	4,4	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A	
R914 7011-ABD1	восстан.	4,2	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A	
R814 7491-CACA	восстан.	4,1	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A	
R714 7249-DAB	восстан.	3,9	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A	
R914 7011-ABC3	восстан.	3,8	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A	
R144513CAF-17A	восстан.	3,7	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A	
R814 7220-ABAB	восстан.	3,5	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A	
R814 7491-CABB	восстан.	3,5	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A	
R144513CAB-22B	восстан.	3,5	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A	
R7569-DA	восстан.	3,3	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A	
LE12/252		3,1	TT:TT																				
R814 7198-DBDA	восстан.	3,1	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A	
H12D0342-40	восстан.	3,0	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A	
Alabaster			TT:TT										MD										
R714 7247-CAA	восстан.	2,1	TT:TT		MD		A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
Admiral		2,0	TT:TT					C:C										A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
Armstrong		1,9	TT:TT						A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R714 7247-DDA	восстан.	1,9	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R714 7031-AAC	восстан.	1,8	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	G:G	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R614 41115CC	восстан.	1,8	TT:TT		MD		A:A	C:C	C:C	G:G	C:C	MD	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
H12D0342-41	восстан.	1,6	TT:TT				A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
LE11/226		1,6	TT:TT																	A:A	A:A	C:C	
R91440051-ALABA	восстан.	1,5	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A		C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R714 7249-DAC	восстан.	1,5	TT:TT		MD		A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
H12D0361-122	восстан.	1,5	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	-	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R91440051-ALBCB	восстан.	1,5	TT:TT				A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
H11D0324-137A	восстан.	1,5	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	E:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	A:A	A:A	C:C	
R714 7249-ADA	восстан.	1,4	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R714 7249-DBA	восстан.	1,4	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R101440139GABLBA	восстан.	1,4	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	A:A	A:A	C:C	
R614 41126-AB	восстан.	1,4	TT:TT				A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	-	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R41442116	восстан.	1,4	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	A:A	A:A	C:C	
R714 7249-DCB	восстан.	1,4	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
H11D0324-131A	восстан.	1,3	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C		C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	A:A	A:A	C:C	
R91440103-AAACA	восстан.	1,2	TT:TT					C:C	C:C	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R9147546-AABAA	восстан.	1,2	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
H12D0389-12	восстан.	1,2	TT:TT				A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R714 7249-DCA	восстан.	1,1	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	
R714 7247-DCB	восстан.	0,9	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C	

Данные аллели представлены названиями аллелей из генома Raphanus и V. oleracea, не учитывая аллели из генома V. para. Черный цвет означает присутствие генома Raphanus, белый цвет означает присутствие генома V. oleracea, а серый - присутствие обоих геномов.

Пример 4. Устойчивость к растрескиванию стручков, исходящая от *Raphanus*, является частично доминантной.

Для получения гибридов со стерильной линией CMS используются восстанавливающие линии *Ogura*. У полученных гибридов интрогрессия *Raphanus* находится в гетерозиготном состоянии, поэтому эти гибриды подходят для проверки того, как наследуется устойчивость к растрескиванию стручков: доминантно, рецессивно или промежуточно.

Примеры результатов измерений у различных гибридов *Ogura* приведены на фиг. 5. Черный цвет означает присутствие генома *Raphanus*, белый цвет означает присутствие генома *B. oleracea*, а серый - присутствие обоих геномов. Для этих измерений в общей сложности использовали 100 стручков и считывали среднее из 100 измерений. Из таблицы четко видно, что устойчивость к растрескиванию стручков наследуется по крайней мере частично доминантно от восстанавливающих линий *Ogura* с длинной интрогрессией к соответствующим гибридам (генотипы 1-7 и 11). Генотипы 7-10 также являются гибридами *Ogura*, но у них восстанавливающими являются соответствующие короткие интрогрессии, лишённые области растрескивания стручков из интрогрессии *Raphanus*. Поэтому эти гибриды не проявляют стойкости к растрескиванию стручков.

Пример 5. Идентификация других маркеров, тесно связанных с локусом POSH.

Авторы изобретения показали, что вне ожидания локус *Fruitfull* локализован на интрогрессии *Raphanus*, так как все маркеры, разработанные из последовательности гена *Fruitfull*, который идентифицирован в геноме *Raphanus*, тесно связаны с маркерами локуса POSH, описанными выше (фиг. 5).

В частности, авторы изобретения также идентифицировали расчетную открытую рамку считывания (SEQ ID NO: 31) гена *Fruitfull* у *Raphanus* и соответствующий расчетный белок (SEQ ID NO: 32) или соответствующую расчетную к ДНК (SEQ ID NO: 33). Такие последовательности можно дополнительно использовать для идентификации SNP *Raphanus*, связанных с локусом POSH⁺ в растениях *Brassica*.

Идентифицировали два разных типа маркеров. Первый тип не специфичен для генома. Он основывается на классическом подходе с SNP между *B. napus* и *Raphanus* и общими маркерами между *B. oleracea*, *B. gara* и редисом. Таким образом, один аллель будет амплифицировать *B. gara* и *B. oleracea*, а другой аллель специфичен для генома редиса. В этом типе конструкции геном А всегда амплифицируется, поэтому он дает фоновый сигнал, который снижает разрешение наблюдений. Этот тип маркера не позволяет отличить AA/CC от AA/Ø.

Второй тип маркеров специфичен для генома. Поэтому отсутствует амплификация генома "А" *B. gara*. Такой подход реализуется при SNP между *B. napus* и *Raphanus* и общими HSV (гомологическими вариантами последовательностей) между *B. oleracea* и *Raphanus*.

Примеры последовательностей праймеров для идентификации не специфичных для генома маркеров *Fruitfull_H1_04* представлены *Fruitfull_H1_04_F_A1* (SEQ ID NO: 40), *Fruitfull_H1_04_F_A2* (SEQ ID NO: 41) и *Fruitfull_H1_04_F_C* (SEQ ID NO: 42), а праймеры для идентификации специфичных для генома маркеров *Fruitfull_spe_01* представлены *Fruitfull_spe_01_R_A1* (SEQ ID NO: 52), *Fruitfull_spe_01_R_A2* (SEQ ID NO: 53) и *Fruitfull_spe_01_R_C* (SEQ ID NO: 54).

Эти маркеры использовались для идентификации и отслеживания участка POSH в селекционных программах, как показано в табл. 5.

Пример 6. Разработка новых устойчивых к растрескиванию стручков линий *Brassica napus* с укороченной интрогрессией *Raphanus*.

Потомство F4 от линий, полученных в примере 1, подвергали систематическому фенотипированию на устойчивость к растрескиванию стручков и проводили скрининг с помощью кодоминантных SNP-маркеров, разработанных в примере 3.

В табл. 6 представлены кодоминантные SNP-маркеры, которые использовались для анализа всех полученных новых рекомбинантных растений.

Таблица 6

SEQ ID NO:	Нуклеотидная последовательность
4	TCAGACTCATCCAGATAAAGAAGAACAATCTCATCTTCTGTGCACTCTATGG TACAAACTCCTTCAGGTACAGCWCAGACGCACAGGTTTGCCACTGA[A/G]ACAG CCGAGCTCCSTGCGCAAGAAGGAGAAAGAGTGACAATTGCATCTGCTGCTCCA TCAGATGTTTACAGACAAGTGGGACCTTTCAAGTTTACCCCA
5	TAAGTATACTCGAAATGGCCAAATCTCACTCTTTCAAGATCGGCGACTCCCT CTTGTCTTGTACCCACCAAGCGAAGATTCAATGATTCAGTGACA[C/G]CTTCC AACTTCAAGAGCTGCAACACCAAAGATCCGATCTTGTACATGAACGACGGCAA CTCTCTTCAACCTACCCAAAACGGAACTTTTACTTCAC
6	GAAGTGTCTGGACACAGCTGAGAAAGCCACGAAGGGGATATCATGCAATT TCGTGGGCACCCAAGGCAATGACAGTTGGGGAGAGAAAGGCGCAGGT[A/T]TTA GCGACAGCAGGGGTTGACAARAAAGTGAAGCTGTGGGAAGCTCCAAMGTTGCA GTCTGTGTAGACTTGCTACTGCTGCTGCAATACAAAGAAAGTCT
7	CTAGTTTCAGGGAATGGTTTRCAGAAGGTTGAATTGATGAAGACGAGACTTCT TCATCAGACGAGACTCAACGTCATTGACACCAACGAACCTTTA[C/A]WGAC TTGAAGGAAAAGTGGGATGGTCTTGAGAACAARACRACYGTGGTTATCTAYGG AGGAGGAGCCATTGTWGCTGTTTGGTTATCTCCATTCTTGTT

8	TCAAGAAGACTTACCCAACAGTCCAGCTTACAGCATGGACATTTTTCCCCATTG TGGGATGGGTAAAYTACAAGTATGTGCCACTGCACTTCCGGGTCAT[C/A]TTGC ACAGCCTCGTYGCATTCTTCTGGGGAATCTCCTGACCCCTGCGAGCAAGGTCAA TGACACTAGCTTTGGCAAAGGCTAAGTGATCAGGGAAACACA
9	AGTATGAAGAAGAGGGYGAGTATGAGAGAGGTGGGTGCAAGCAGAGGAGAGG AGAGTCAGAGGAAGGKCATGGRTACTACGAAGGGCGTAGTAGACGTT[C/A/G]A GCCATTATGAGCGTGAGGAGGAACAAGGAGGTGASCAAGACCGKTACGAYGAC CGTTATGGGAGAGTGGAGGAAGAAGAATACCGTTATGATGATCGTG
10	CTCCTCKCCGAATCCGTTTGGGGAYGCGTTCAAGGGGCCMGAGATGTGGGCS AAGCTGACGGCGGATCCGTCGACGAGGGGGTTCTGAAGCAGCCTGA[C/T]TTC GTCAACATGATGCAGGAGATCCAGAGGAACCCTAGCAGTCTCAATCTACTTTG AAGACCAGAGGGTGATGCAGTCTCTYGGGGTTTTGTTGAATG
11	TCAAGGACTTTGGTGATAGTATTCCAGGACATGGTGGAATCACTGATAGAATGG ACTGCCAGATGGTAATGGCAGTATTTGCTTACATATATCTCCAGTC[C/A]TTTAT CGTCTCCAAAGCGTTTCGGTTGACAAAATCCTGGACCAGATATTGACGAACCT TAGCTTCGAGGAACAACAAGCTCTTCTACTAGATTAGGGC
12	TTGGCCCTGAAGGTTCTACAGTGCTTCAATTATAGACAATCTTCAACTTCTGCTTC TATTGGGAAAATCAGTTGCAAGGTGTACTATTGCAAGAAGACGA[A/G]GTTTG CTTGTAACAGTCTGTTCAAGTTGAGGTACCTTCAAGRTGGAATCAGAAKCRCTT YCTTCYAGGTGATCGCATCCCGTTAAACCTAGAGCAT
13	CTAAGGCAATGAAGTACCTGTCAATAGGTGAAGAAGACGATATATCATGGTCA CTTATCAAAGCTGCCTTCTTTCAGTAGCTCAAACCGCAATCATACC[A/G]ATGC AAGACATTTCTCGGWCTYGGAAAGTTCTGCCAGGATGAACACTCCAGCCACTGAG GTGGGAACTGGGGTTGGAGGATCCGAGTTCAACGAACTTTG
14	CTTTTGTGTTTTGGTGAATAGTATCTGTCAAGATACCAGTTGGGAAAGGAT GTGGATTCATTAGTTTGTCAACAGAGAAAACGAGAGGAGGCTTT[A/G]GAGA AACTAAATGGTTCTGTAATTGGAAAACAAACCGTTTCGCTTTCTMTGGGGTCGTA AYCAAGGCAAYAAACAGCCTCGAGGTGGGTATGG
15	GTCCATGTTGATGCAATTGATATCAGCAGACGCATTTGAGAACTTGAAACCAGC TCCAGATATTTCTTGGCTGCTTCCAATKATCTTGGGTGTGCCACA[T/A]GCGAG TGTATTGTTATTGAAGATGCACTTGTGGAGTCCAGGCTGCTCAAGCTGCAAAAC ATGAGATGCATAGCTGTGAAAACACTTTTATCTGAAGCAAT
16	ACTTTGTGAYAGYCTTACMGGAGTAGGACTTGTGATCAAATGGGAACTTCT TCTGCAAAACGCTCTTGTGTTGGCTGTAGCTGGAGTTCTTTTTCAT[T/C]CGCAA GAACGAAGATTAGATAAGCTCAAGGGTCTRWYGAAGAGACGACGYTRTATG ACAAGCARTGGCAAGCGGCTTGGAAAGAGCCGGAAATAATCA
17	CACAACATGCCGGTGATTGGTATCCAGCTGACCTTGGATCCAACGATTTCAAAG GTCTCTATGGATATAAGGCTTTTATTGCCATTGCCATTATCCTTGG[G/A]GACGG TCTCTACAATCTTGTCAAGATCATTGCTGTCACTGTGAAGGAATTATGCAGCAA TAGCTCTAGACACCTCAATCTACCCGTTGTTRCCAACGTTG
18	AGAAGATGGAGTTCTTGATGTTTGTCTYGATCGGGTTTTGAARCCCGGTGGGT TGTTCTGGTTGGATAACTTCTACTGCGCTAGTGACGTGAAGAAGAA[A/G]GAGC TGACGCGTTTGATYAGAGGTTTGGGTATAAGAAGCTGAAATGGGTTATTGGA GAGAAGGCTGATGGGCAAGTGWATCTCTGCTGTTCTKCAA
19	TAGAGCTGAAGCTAGGTATAGGAGGCACATCATAYAAAGATTTTCATTTCAAAGC CTTCTATACCTATGCAATTGAGTCAAGTAGACCCAATAGTAGCGTC[C/A]TTCT CYGGAGGAGCTGTTGGTGTGATCTCRGKYTGATGGTWTGWAAGTCAACAAC GTGAAGCAGCAAGAGCACAAGAGATGCAAATACTGTCTAGGAA
20	TTAAGAAGTGTGCTACTGACATTGACCCTGAGAGGGGAGAAGGAGAAGAGAGAA AGGATGGAAAGCCAAAACCTCAAGGCTAGTACAAAGCTGAGTCAAGC[G/A]AG GGAGAAAATCAAGCGCAAGTATCCACTTCTGTTGCAAGGAGRCAACTYTCCA CTGGRTACNTGGAAGATGCTCTCGAAGAGGATGAAGAGACAGACC
21	GCTCAGGTAGATCTCCACGGGTTGGGGAAGAGGATCCGGATATGGGTATGGG TCTGGATCTGGATCAGGTAGCGGATATGGGTACGGTTCGGGAGGTGG[A/C]GGA GSACGTGGTGGTGGGTATGGTTATGGAAGCGGAAATGGTCCGCTGGAGGWGG TGGTGGTGGCTCTAATGGTGAAGTTGCCGCTTTGGGCCACGGTG
22	TCAGACTCATCCAGATAAAGAAGAACAATACTCATCTTCTGTGCACTCTATGG TACAACTCCTTACAGGTACAGCWCAGAACGCACAGGTTTGCCACTGA[A/G]ACAG CCGAGCTCCCTGCGCAAGAAGGAGAAAAGAGTGACAATTGCATCTGCTGTCCA TCAGATGTTTACAGACAAGTGGGACCTTTCAAGTTTACCCCA

В вышеприведенных последовательностях маркеров SNP приведены в скобках, причем первый нуклеотид представляет SNP Raphanus, а второй нуклеотид представляет SNP *B. oleracea*.

Эта систематическая проверка привела к идентификации одного рекомбинантного растения с укороченной интрогрессией Raphanus, в которой все еще присутствовал участок, кодирующий растрескивание стручков. Потомство F5 этого растения имеет генотип R42141F с генеалогией FOCTD909 × NSL09/196. Эта рекомбинантная линия устойчива к растрескиванию стручков и имеет хорошие размеры стручков.

На фиг. 6 представлены результаты фенотипирования и генотипирования потомства F5 в сравнении с другими линиями и гибридами. Линии Amalie и Arabella не являются восстанавливающими. R7011-AB - восстанавливающая линия с длинной интрогрессией, включающей ген Rf0 (маркер BnRF0, как описано в SEQ ID NO: 1) и маркеры области POSH. Arsenal - гибридная разновидность с длинной интрогрессией, включающей ген Rf0 (маркер BnRF0, как описано в SEQ ID NO: 1) и маркеры области POSH. Линия RD153-101 - восстанавливающая, но не устойчивая к растрескиванию стручков, с короткой

интрогрессией, описанной в патентной заявке WO 2011/020698. R101540103-ААССВА - восстанавливающая линия, но не устойчивая к растрескиванию стручков, с короткой интрогрессией.

Эти результаты показывают, что участок POSH локализуется в области, тесно связанной с маркерами локуса POSH по SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 и SEQ ID NO: 21.

Результаты по устойчивости стручков и профилю генотипа у устойчивой к растрескиванию стручков рекомбинантной линии R51542141F (также именуется R42141F) и комплекта эталонных генотипов представлены на фиг. 6. Приведенные аллели представлены названиями аллелей из генома *Raphanus* и *V. oleracea*, не учитывая аллели из генома *V. гара*. Черный цвет означает присутствие генома *Raphanus*, белый цвет означает присутствие генома *V. oleracea*, а серый - присутствие обоих геномов.

Пример 7. Идентификация новых устойчивых к растрескиванию стручков линий *Brassica napus* без области Rf0 *Raphanus* и получение устойчивых к растрескиванию стручков женских растений и инбредных линий не типа *Ogura*.

Для того чтобы получить новые рекомбинантные восстанавливающие линии с более короткой интрогрессией *Raphanus*, в январе 2012 г. проводили 128 скрещиваний. При этом мужские растения *Ogura* и гибриды с исходной длинной интрогрессией *Raphanus*, несущие устойчивость к растрескиванию стручков POSH⁺, скрещивали с мужскими растениями *Ogura* POSH⁻ с укороченной интрогрессией *Raphanus* или с инбредными линиями, не содержащими интрогрессии геномного фрагмента *Raphanus*. В ноябре 2012 г. 6421 растение F2, полученных при этих скрещиваниях, генотипировали по 4 SNP-маркерам, локализованным на C09, как описано в примере 1. Самоопыленные семена от всех 353 потенциальных рекомбинантов высевали в виде F3 для проверки результатов по растениям F2. Растения F3 анализировали в ноябре 2013 г. с помощью набора кодоминантных SNP-маркеров, разработанных в примере 3.

Те же самые кодоминантные SNP-маркеры использовали для анализа всех новых рекомбинантных растений, полученных при посеве в виде F3 в ноябре 2013 г. (см. предыдущую табл. 7).

Среди этих растений F3 были идентифицированы растения, обозначенные как FR-13C-3-03137-2 и FR-13C-3-03137-5. Эти растения были отобраны потому, что они несут только благоприятные аллели *Raphanus* по маркерам SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 и SEQ ID NO: 21, связанные с устойчивостью к растрескиванию стручков, без каких-либо других аллелей *Raphanus* из интрогрессии. Поскольку эти растения были со стерильной цитоплазмой *Ogura* и не содержали гена Rf0, то они были стерильными и поэтому не могли самоопыляться. Для поддержания явления рекомбинации были отобраны четыре другие рекомбинантные фертильные линии с укороченной интрогрессией *Raphanus*, но несущие ген Rf0, для скрещивания со стерильными, но устойчивыми к растрескиванию стручков рекомбинантами (генотипические профили приведены на фиг. 7, на которой представлена молекулярная характеристика рекомбинантных линий F3 при интрогрессии *Raphanus*. Черный цвет означает присутствие генома *Raphanus*, белый цвет означает присутствие генома *V. oleracea*, а серый - присутствие обоих геномов).

Полученное при этом потомство F1 является фертильным, несет укороченный фрагмент *Raphanus* и устойчивость к растрескиванию стручков. С этим F1, с одной стороны, можно получать инбредные линии с укороченной интрогрессией *Raphanus*, несущие устойчивость к растрескиванию стручков, путем инбридинга и отбора с помощью маркеров, а с другой стороны - скрещивать F1 в качестве мужского растения и тем самым переносить устойчивость к растрескиванию стручков в любые другие растения *Brassica*. В этом отношении особый интерес представляет скрещивание F1 с растениями *Brassica napus* с фертильной цитоплазмой с тем, чтобы перенести устойчивость к растрескиванию стручков за пределы стерильной цитоплазмы *Ogura* и получить инбредные линии с устойчивостью к растрескиванию стручков, но без гена Rf0. Эти инбредные линии можно впоследствии использовать в качестве мужских/женских растений в других гибридных системах (напр., GMS) или же после преобразования в CMS в качестве женских растений в гибридной системе *Ogura*.

Пример 8. Корреляция между уменьшением интрогрессионного фрагмента *Raphanus* и увеличением размера стручков.

Измеряли размер стручков у различных линий или гибридов, несущих признак POSH. Растения выращивали в поле, а стручки отбирали на стадии полной зрелости. Измерение размера стручков соответствует измерению (в см) верхней половины стручка, которая не включает носика и ножки. Результаты представлены на фиг. 3А и 3В.

R51542141F - рекомбинантная линия, R4513-CA - линия с длинной интрогрессией. Adriana - контрольный невосстанавливающий гибрид, который не содержит интрогрессии генома *Raphanus*.

Arsenal - гибридная разновидность с длинной интрогрессией, включающей ген Rf0 и маркеры области POSH. RD153-101 - восстанавливающая линия с короткой интрогрессией, которая не устойчива к растрескиванию стручков.

Результаты показывают, что существует корреляция между уменьшением интрогрессионного фрагмента *Raphanus* и увеличением размера стручков.

Пример 9. Сегрегация POSH в популяции двойных гибридов.

Гибриды, содержащие короткую интрогрессию, скрещивали с гибридами, содержащими длинную интрогрессию. Получали сегрегирующие популяции двойных гибридов и выращивали растения в поле. Измеряли устойчивость стручков в соответствии с примером 3.

Приведенные на фиг. 4А-4Н результаты свидетельствуют о сегрегацию POSH в популяции двойных гибридов.

Результаты показывают, что существует значительная корреляция между длинной интрогрессией, несущей маркера POSH, представленные аллелями в черных клеточках, и высоким уровнем стабильности стручков.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Растение Brassica, содержащее в своем геноме геномный фрагмент Raphanus, который придает фенотип устойчивости к растрескиванию стручков POSH⁺ и характеризуется отсутствием по меньшей мере одного SNP Raphanus, идентифицированного в пределах по меньшей мере одного маркера из SEQ ID NO: 4-18; и

присутствием в геномном фрагменте Raphanus по меньшей мере одного SNP Raphanus, связанного с фенотипом POSH⁺ по меньшей мере в одном маркере SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 или SEQ ID NO: 21, в котором SNP Raphanus представляет собой нуклеотид, который присутствует в геноме Raphanus в полиморфном положении и который не присутствует в геноме Brassica oleracea.

2. Растение Brassica по п.1, не имеющее однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) Raphanus, идентифицированные в пределах любого из маркеров SEQ ID NO: 9 и SEQ ID NO: 12-18.

3. Растение Brassica по любому из пп.1, 2, не имеющее однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) Raphanus, идентифицированные в пределах любого из маркеров SEQ ID NO: 4-18.

4. Растение Brassica по любому из пп.1-4, которое дополнительно содержит аллель из Raphanus, вовлеченный в репрессию экспрессии генов идентичности края створки (FRUITFULL).

5. Растение Brassica по п.4, в котором аллель Fruitfull из Raphanus включает однонуклеотидный полиморфизм (SNP) Raphanus в маркере SEQ ID NO: 22.

6. Растение Brassica по любому из пп.1-5, которое дополнительно содержит locus восстановления мужской фертильности (Rf0) во фрагменте из Raphanus.

7. Растение Brassica по любому из пп.1-6, которое содержит цитоплазму цитоплазматической мужской стерильности (CMS) системы Ogura.

8. Гибридное растение Brassica, полученное путем скрещивания растения Brassica, содержащего фрагмент из Raphanus, придающий фенотип устойчивости к растрескиванию стручков (POSH⁺), по любому из пп.1-7, с другим растением Brassica, не содержащим данного фрагмента из Raphanus, придающего фенотип POSH⁺, причем данное гибридное растение содержит геномный фрагмент из Raphanus, который придает фенотип устойчивости к растрескиванию стручков (POSH⁺).

9. Семена растения Brassica по любому из пп.1-8.

10. Способ идентификации растения Brassica POSH⁺ по любому из пп.1-9, причем данное растение Brassica идентифицируют по отсутствию по меньшей мере одного SNP Raphanus, идентифицированного в пределах по меньшей мере одного маркера из SEQ ID NO: 4-18, и обнаружением присутствия по меньшей мере одного SNP Raphanus, связанного с фенотипом POSH⁺, идентифицированного в пределах по меньшей мере одного из маркера SEQ ID NO: 19-21.

11. Способ по п.10, в котором locus POSH⁺ идентифицируют по наличию аллеля Fruitfull из Raphanus, более предпочтительно маркера Raphanus SEQ ID NO: 22.

12. Способ по п.10 или 11, в котором дополнительно идентифицируют locus восстановления мужской фертильности (Rf0).

13. Средство для выявления одного или нескольких SNP Raphanus в одном или нескольких из следующих маркеров: SEQ ID NO: 4-22, где указанное средство состоит из праймера или праймеров, выбранных из любой из SEQ ID NO: 52-54 и SEQ ID NO: 64-117.

14. Средство по п.13, состоящее из одного или нескольких праймеров, включающих в себя любые из SEQ ID NO: 64-99, 106-108, 112-114 и 52-54.

15. Применение растений Brassica либо их семян по любому из пп.1-9 для производства пищи.

16. Применение растения Brassica или их семян по любому из пп.1-9 в производстве масла.

17. Применение растения Brassica или его семян по любому из пп.1-9 для производства кормов.

18. Применение растения Brassica или их семян по любому из пп.1-9 в селекции для улучшения агрономических ценностей растения, линии, гибрида или сорта Brassica.

19. Способ получения растений Brassica с фенотипом устойчивости к растрескиванию стручков (POSH⁺), который включает следующие стадии:

а) скрещивание первого растения POSH⁺ Brassica по любому из пп.1-8 со вторым растением Brassica POSH⁻ или POSH⁺, получая при этом гибридное растение F1;

б) самоопыление или возвратное скрещивание данного гибридного растения F1 с указанным вторым растением Brassica POSH⁻ или POSH⁺;

в) отбор растений Brassica POSH⁺ среди растений, полученных на стадии б), используя по меньшей мере один SNP Raphanus, связанного с фенотипом POSH⁺, идентифицированный в пределах по меньшей мере одной из SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 или SEQ ID NO: 21; и

d) дополнительный отбор данных растений Brassica POSH⁺ по отсутствию по меньшей мере одного из SNP Raphanus, идентифицированного по меньшей мере в одной из SEQ ID NO: 4-18.

20. Способ по п.19, в котором первым POSH⁺ растением Brassica по любому из пп.1-8 служит растение, полученное из репрезентативного образца семян, депонированных в коллекции NCIMB за номером 42444.

21. Способ получения растений Brassica POSH⁺ по любому из пп.1-8, который включает следующие стадии:

a) получение первого растения Brassica POSH⁺, содержащего геномный фрагмент Raphanus, придающий признак POSH⁺, причем данная интрогрессия из Raphanus включает по меньшей мере один из SNP Raphanus, идентифицированных в одном или нескольких из следующих маркеров: SEQ ID NO: 4-18;

b) скрещивание данного первого растения Brassica POSH⁺ со вторым растением Brassica POSH⁻ или POSH⁺, получая при этом гибридное растение F1;

c) самоопыление или возвратное скрещивание гибридного растения F1 с указанным вторым растением POSH⁻ или POSH⁺;

d) отбор растений POSH⁺ среди растений, полученных на стадии c), отбор по присутствию по меньшей мере одного SNP Raphanus SNP, связанного с фенотипом POSH⁺, идентифицированного в пределах по меньшей мере одной из SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20 или SEQ ID NO: 21, и отбор по отсутствию по меньшей мере одного SNP Raphanus, идентифицированного по меньшей мере в одной из SEQ ID NO: 4-18.

22. Способ по любому из пп.19-21, в котором указанное первое растение Brassica POSH⁺ содержит восстанавливающий фертильность ген системы Огуа (Rf0).

23. Растение Brassica с фенотипом устойчивости к растрескиванию стручков (POSH⁺), полученное способом по любому из пп.19-22.

```
Raphanus sativus          TATACATAACTGAGTAAGACTTATAA--ACATAAACATCTAGAAGAAAACAAAGCTTAAAACTTACACTCTGCGAAATGTCTCGGCCAACAAAGTTGTTT
Brassica oleracea (B napus C09) .....C.....G.GT.....T..T.....
Brassica rapa (B napus A09)    ..C.....C.....G..T.....T..T.....

Raphanus sativus          GTCTGAATATAAATAGCGATCGTAGCGTTCAGTATCCCTTCCATGCTATATTCAGAAAAATAA---AACAAAAATATACTTCAGTAATTTGATCCATGT
Brassica oleracea (B napus C09) .....A..T..C.....G..A..ACA.T.....T.....
Brassica rapa (B napus A09)    .....A..T..C.....G..A..CA.T.....T.....
```

Фиг. 1

```
Raphanus sativus          TCAGAACTTTTCATAGCTAGAGATGTATATACACAAATTAATCATACTCTACATGTAATTAAGAATGCTACCGAGAAAGGGAGAGAGGAAACCTGGAG
Brassica oleracea (B napus C09) .....C.....A..A.....T.....T.....
Brassica rapa (B napus A09)    .....C.....A..A.....T.....T.....

Raphanus sativus          GATGTTACGCAGTACTGGGGCTGAAGAACTGAAGAAATGTTGGAGCATGGGATTAATGTCTCTGCTGACCCGGTCTCTCC-----CTCTCCT
Brassica oleracea (B napus C09) ..G.....T.....CCTTTTCT.....
Brassica rapa (B napus A09)    .CG.....T.....CCTTTTCT.....
```

Фиг. 2

Генотип	POSH (N) Размер стручков (см)		Интрогрессия Raphanus			Восстанов- ливающий ген					Интрогрессия Raphanus				
	Среднее	Среднее	SEQIDN03	SEQIDN04	SEQIDN05	SEQIDN01	SEQIDN06	SEQIDN07	SEQIDN08	SEQIDN09	SEQIDN10	SEQIDN11			
Adriana	0,6	6,7	G:G	G:G	G:G	C:C	T:T	A:A	A:A	G:G	T:T	A:A			
R4513-CA	5,1	4,4	TT:TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C			
Arsenal	2,8	7,1	TT:TT	G:A	G:C	C:A	T:A	C:A	C:A	G:A	T:C	C:A			
RD153-101	0,9	6,1	TT:TT	G:A	G:C	C:A	A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A			
R51542141F	4,2	6,5	TT:TT	G:A	G:C	C:A	T:A	C:C	C:C	G:G	T:C	C:C			

Фиг. 3А

								Область POSH		
Генотип	SEQIDN12	SEQIDN13	SEQIDN14	SEQIDN15	SEQIDN16	SEQIDN17	SEQIDN18	SEQIDN19	SEQIDN20	SEQIDN21
Adriana	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C
R4513-CA	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
Arsenal	G:A	G:A	G:A	T:A	T:C	G:A	G:A	C:A	G:A	C:A
RD153-101	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C
R51542141F	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	C:C	G:A	C:A

Фиг. 3В

Генотип	Происхождение	Стойкость стручков (N)	Интрогрессия Raphanus																		Область POSH		
			SEQIDN03	SEQIDN04	SEQIDN05	SEQIDN01	SEQIDN06	SEQIDN07	SEQIDN08	SEQIDN09	SEQIDN10	SEQIDN11	SEQIDN12	SEQIDN13	SEQIDN14	SEQIDN15	SEQIDN16	SEQIDN17	SEQIDN18	SEQIDN19	SEQIDN20	SEQIDN21	
H12D0361-26	короткая, гибрид × длинная, гибрид	0,6	TT: TT	G:A	G: C	C: A	A: A	C: C	A: A	G: G	T: T	A: A	G: G	G: G	G: G	A: A	C: C	A: A	G: G	A: A	A:A	C: C	
H12D0361-34	короткая, гибрид × длинная, гибрид	0,6	TT: TT	G:A	G: C	C: A	A: A	C: C	A: A	G: G	T: T	A: A	G: G	G: G	G: G	A: A	C: C	A: A	G: G	A: A	A:A	C: C	
H12D0361-82	короткая × длинная, гибрид	0,6	TT: TT	G:A	G: C	C: A	A: A	C: C	A: A	G: G	T: T	A: A	G: G	G: G	G: G	A: A	C: C	A: A	G: G	A: A	A:A	C: C	
H12D0361-98	короткая, гибрид × длинная, гибрид	4,8	TT: TT	A:A	C: A	A: A	C: C	C: C	A: A	C: C	C: C	A: A	A: A	A: A	T: T	T: T	G: G	A: A	C: C	G:G	A: A		
H12D0361-103	короткая, гибрид × длинная, гибрид	3,8	TT: TT	A:A	C: A	A: A	C: C	C: C	A: A	C: C	C: C	A: A	A: A	A: A	T: T	T: T	G: G	A: A	C: C	G:G	A: A		
H12D0361-126	короткая, гибрид × длинная, гибрид	4,8	TT: TT	A:A	C: A	A: A	C: C	C: C	A: A	C: C	C: C	A: A	A: A	A: A	T: T	T: T	G: G	A: A	C: C	G:G	A: A		
H12D0361-128	короткая, гибрид × длинная, гибрид	4,6	TT: TT	A:A	C: A	A: A	C: C	C: C	A: A	C: C	C: C	A: A	A: A	A: A	T: T	T: T	G: G	A: A	C: C	G:G	A: A		
H12D0361-131	короткая, гибрид × длинная, гибрид	5,0	TT: TT	A:A	C: A	A: A	C: C	C: C	A: A	C: C	C: C	A: A	A: A	A: A	T: T	T: T	G: G	A: A	C: C	G:G	A: A		

Фиг. 4А

Генотип	Происхождение	Стойкость стручков (N)	Интрогрессия Raphanus																Область POSH			
			SEQIDN03	SEQIDN04	SEQIDN05	SEQIDN01	SEQIDN06	SEQIDN07	SEQIDN08	SEQIDN09	SEQIDN10	SEQIDN11	SEQIDN12	SEQIDN13	SEQIDN14	SEQIDN15	SEQIDN16	SEQIDN17	SEQIDN18	SEQIDN19	SEQIDN20	SEQIDN21
H12D0361-139	короткая, гибрид × длинная, гибрид	4,1	TT: TT	A:A	C: C	A: A	A: A	C: C	C: C	A: A	C: C	C: C	A: A	A: A	A: A	T: T	T: T	G: G	A: A	C: C	G:G	A: A
H12D0361-161	короткая, гибрид × длинная, гибрид	3,9	TT: TT	A:A	C: C	A: A	A: A	C: C	C: C	A: A	C: C	C: C	A: A	A: A	A: A	T: T	T: T	G: G	A: A	C: C	G:G	A: A
H12D0361-162	короткая, гибрид × длинная, гибрид	0,6	TT: TT	G:A	G: C	C: A	A: A	C: C	A: A	G: G	T: T	A: A	G: G	G: G	G: G	A: A	C: C	A: A	G: G	A: A	A:A	C: C
H12D0361-202	короткая, гибрид × длинная, гибрид	0,6	TT: TT	G:A	G: C	C: A	A: A	C: C	A: A	G: G	T: T	A: A	G: G	G: G	G: G	A: A	C: C	A: A	G: G	A: A	A:A	C: C
H12D0389-12	длинная, гибрид × короткая, мужское	0,8	TT: TT	G:A	G: C	C: A	A: A	C: C	A: A	G: G	T: T	A: A	G: G	G: G	G: G	A: A	C: C	A: A	G: G	A: A	A:A	C: C
H12D0389-14	длинная, гибрид × короткая, мужское	5,1	TT: TT	A:A	C: C	A: A	A: A	C: C	C: C	A: A	C: C	C: C	A: A	A: A	A: A	T: T	T: T	G: G	A: A	C: C	G:G	A: A
H12D0389-24	длинная, гибрид × короткая, мужское	4,2	TT: TT	A:A	C: C	A: A	A: A	C: C	C: C	A: A	C: C	C: C	A: A	A: A	A: A	T: T	T: T	G: G	A: A	C: C	G:G	A: A
H12D0389-40	длинная, гибрид × короткая, мужское	0,4	TT: TT	G:A	G: C	C: A	A: A	C: C	A: A	G: G	T: T	A: A	G: G	G: G	G: G	A: A	C: C	A: A	G: G	A: A	A:A	C: C

Фиг. 4В

Генотип	Происхождение	Стойкость стручков (N)	CMS				Интрогрессия Raphanus													Область POSH		
			SEQIDN03	SEQIDN04	SEQIDN05	SEQIDN01	SEQIDN06	SEQIDN07	SEQIDN08	SEQIDN09	SEQIDN10	SEQIDN11	SEQIDN12	SEQIDN13	SEQIDN14	SEQIDN15	SEQIDN16	SEQIDN17	SEQIDN18	SEQIDN19	SEQIDN20	SEQIDN21
H12D0389-49	длинная, гибрид × короткая, мужское	0,6	П: П	G:A	G:C	C:A	A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C
H12D0389-50	длинная, гибрид × короткая, мужское	4,6	П: П	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
H12D0389-64	длинная, гибрид × короткая, мужское	1,1	П: П	G:A	G:C	C:A	A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C
H12D0389-68	длинная, гибрид × короткая, мужское	0,3	П: П	G:A	G:C	C:A	A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C
H12D0347-7	длинная, гибрид × короткая, мужское	0,7	П: П	G:A	G:C	C:A	A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C
H12D0347-10	длинная, гибрид × короткая, мужское	1,0	П: П	G:A	G:C	C:A	A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C
H12D0347-18	длинная, гибрид × короткая, мужское	0,7	П: П	G:A	G:C	C:A	A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C
H12D0347-32	длинная, гибрид × короткая, мужское	1,5	П: П	G:A	G:C	C:A	A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C

Фиг. 4С

Генотип	Происхождение	Стойкость стручков (N)	Интрогрессия Raphanus																Область POSH			
			SEQIDN03	SEQIDN04	SEQIDN05	SEQIDN01	SEQIDN06	SEQIDN07	SEQIDN08	SEQIDN09	SEQIDN10	SEQIDN11	SEQIDN12	SEQIDN13	SEQIDN14	SEQIDN15	SEQIDN16	SEQIDN17	SEQIDN18	SEQIDN19	SEQIDN20	SEQIDN21
H12D0347-41	короткая, гибрид × длинная, гибрид	4,6	TT: TT	A:A	C: A	A: A	C: C	C: C	A: A	C: C	C: C	A: A	A: A	A: A	T: T	T: T	G: G	A: A	C: C	G:G	A: A	
H12D0347-47	короткая, гибрид × длинная, гибрид	3,7	TT: TT	A:A	C: A	A: A	C: C	C: C	A: A	C: C	C: C	A: A	A: A	A: A	T: T	T: T	G: G	A: A	C: C	G:G	A: A	
H12D0347-74	короткая, гибрид × длинная, гибрид	0,9	TT: TT	G:A	G: C	C: A	A: A	C: C	A: A	G: G	T: T	A: A	G: G	G: G	G: G	A: A	C: C	A: A	G: G	A: A	Unu sed	C: C
H12D0347-86	короткая, гибрид × длинная, гибрид	4,1	TT: TT	A:A	C: A	A: A	C: C	C: C	A: A	C: C	C: C	A: A	A: A	A: A	T: T	T: T	G: G	A: A	C: C	G:G	A: A	
H12D0347-88	короткая, гибрид × длинная, гибрид	0,9	TT: TT	G:A	G: C	C: A	A: A	C: C	A: A	G: G	T: T	A: A	G: G	G: G	G: G	A: A	C: C	A: A	G: G	A: A	A:A	C: C
H12D0347-90	короткая, гибрид × длинная, гибрид	4,1	TT: TT	A:A	C: A	A: A	C: C	C: C	A: A	C: C	C: C	A: A	A: A	A: A	T: T	T: T	G: G	A: A	C: C	G:G	A: A	
H12D0347-100	короткая, гибрид × длинная, гибрид	0,6	TT: TT	G:A	G: C	C: A	A: A	C: C	A: A	G: G	T: T	A: A	G: G	G: G	G: G	A: A	C: C	A: A	G: G	A: A	A:A	C: C
H12D0347-104	короткая, гибрид × длинная, гибрид	3,4	TT: TT	A:A	C: A	A: A	C: C	C: C	A: A	C: C	C: C	A: A	A: A	A: A	T: T	T: T	G: G	A: A	C: C	G:G	A: A	

Фиг. 4D

Генотип	Происхождение	Стойкость стручков (N)	CMS			Интрогрессия Raphanus																		Область POSH		
			SEQIDN03	SEQIDN04	SEQIDN05	SEQIDN01	SEQIDN06	SEQIDN07	SEQIDN08	SEQIDN09	SEQIDN10	SEQIDN11	SEQIDN12	SEQIDN13	SEQIDN14	SEQIDN15	SEQIDN16	SEQIDN17	SEQIDN18	SEQIDN19	SEQIDN20	SEQIDN21				
H12D0347-106	длинная, гибрид × короткая, мужское	4,1	TT TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A				
H12D0347-112	длинная, гибрид × короткая, мужское	0,9	TT TT	G:A	G:C	C:A	A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C				
H12D0347-124	длинная, гибрид × короткая, мужское	4,1	TT TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A				
H12D0347-138	длинная, гибрид × короткая, мужское	1,1	TT TT	G:A	G:C	C:A	A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C				
H12D0347-152	длинная, гибрид × короткая, мужское	3,8	TT TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A				
H12D0347-156	длинная, гибрид × короткая, мужское	4,6	TT TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A				
H12D0347-185	длинная, гибрид × короткая, мужское	1,0	TT TT	G:A	G:C	C:A	A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C				
H12D0210-2	длинная, гибрид × короткая, мужское	3,5	TT TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A				

Фиг. 4Е

Генотип	Происхождение	Стойкость стручков (N)	Интрогрессия Raphanus																Область POSH			
			SEQIDN03	SEQIDN04	SEQIDN05	SEQIDN01	SEQIDN06	SEQIDN07	SEQIDN08	SEQIDN09	SEQIDN10	SEQIDN11	SEQIDN12	SEQIDN13	SEQIDN14	SEQIDN15	SEQIDN16	SEQIDN17	SEQIDN18	SEQIDN19	SEQIDN20	SEQIDN21
H12D0210-5	длинная, гибрид × короткая, мужское	4,6	TT TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
H12D0210-9	длинная, гибрид × короткая, мужское	0,7	TT TT	G:A	G:C	C:A	A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C
H12D0210-15	длинная, гибрид × короткая, мужское	1,3	TT TT	G:A	G:C	C:A	A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C
H12D0210-44	длинная, гибрид × короткая, мужское	4,1	TT TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
H12D0210-46	длинная, гибрид × короткая, мужское	4,6	TT TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
H12D0210-65	длинная, гибрид × короткая, мужское	4,4	TT TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:C	A:A	C:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A
H12D0210-80	длинная, гибрид × короткая, мужское	1,3	TT TT	G:A	G:C	C:A	A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C
H12D0210-92	длинная, гибрид × короткая, мужское	0,9	TT TT	G:A	G:C	C:A	A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C

Фиг. 4F

Генотип	Происхождение	Стойкость стручков (N)	Интрогрессия Raphanus															Область POSH				
			SEQIDN03	SEQIDN04	SEQIDN05	SEQIDN01	SEQIDN06	SEQIDN07	SEQIDN08	SEQIDN09	SEQIDN10	SEQIDN11	SEQIDN12	SEQIDN13	SEQIDN14	SEQIDN15	SEQIDN16	SEQIDN17	SEQIDN18	SEQIDN19	SEQIDN20	SEQIDN21
Н12D0210-98	длинная, гибрид × короткая, мужское	0,4	TT TT	G:A	G:C	C:A	A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C
Н13D0029-9	короткая, гибрид × длинная, гибрид	0,8	TT TT	G:A	G:C	C:A	A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C
Н13D0029-10	короткая, гибрид × длинная, гибрид	5,4	TT TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:A	A:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A	
Н13D0029-16	короткая, гибрид × длинная, гибрид	4,0	TT TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:A	A:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A	
Н13D0029-21	короткая, гибрид × длинная, гибрид	1,1	TT TT	G:A	G:C	C:A	A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C
Н13D0029-27	короткая, гибрид × длинная, гибрид	5,0	TT TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:A	A:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A	
Н13D0029-30	короткая, гибрид × длинная, гибрид	3,5	TT TT	A:A	C:C	A:A	A:A	C:C	C:A	A:C	C:C	A:A	A:A	A:A	T:T	T:T	G:G	A:A	C:C	G:G	A:A	
Н13D0029-34	короткая, гибрид × длинная, гибрид	0,7	TT TT	G:A	G:C	C:A	A:A	C:C	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C

Фиг. 4G

Генотип	Происхождение	Стойкость стручков (N)	CMS				Интрогрессия Raphanus													Область POSH		
			SEQIDN03	SEQIDN04	SEQIDN05	SEQIDN01	SEQIDN06	SEQIDN07	SEQIDN08	SEQIDN09	SEQIDN10	SEQIDN11	SEQIDN12	SEQIDN13	SEQIDN14	SEQIDN15	SEQIDN16	SEQIDN17	SEQIDN18	SEQIDN19	SEQIDN20	SEQIDN21
H13D0029-39	короткая, гибрид × длинная, гибрид	4,9	TT: TT	A:A	C: C	A: A	A: A	C: C	C: C	A: A	C: C	C: C	A: A	A: A	A: A	T: T	T: T	G: G	A: A	C: C	G:G	A: A
H13D0029-40	короткая, гибрид × длинная, гибрид	4,0	TT: TT	A:A	C: C	A: A	A: A	C: C	C: C	A: A	C: C	C: C	A: A	A: A	A: A	T: T	T: T	G: G	A: A	C: C	G:G	A: A
H13D0029-41	короткая, гибрид × длинная, гибрид	0,6	TT: TT	G:A	G: C	C: A	A: A	C: C	A: A	G: G	T: T	A: A	G: G	G: G	G: G	A: A	C: C	A: A	G: G	A: A	A:A	C: C
H13D0029-42	короткая, гибрид × длинная, гибрид	3,1	TT: TT	A:A	C: C	A: A	A: A	C: C	C: C	A: A	C: C	C: C	A: A	A: A	A: A	T: T	T: T	G: G	A: A	C: C	G:G	A: A
H13D0029-43	короткая, гибрид × длинная, гибрид	4,3	TT: TT	A:A	C: C	A: A	A: A	C: C	C: C	A: A	C: C	C: C	A: A	A: A	A: A	T: T	T: T	G: G	A: A	C: C	G:G	A: A
H13D0029-45	короткая, гибрид × длинная, гибрид	4,0	TT: TT	A:A	C: C	A: A	A: A	C: C	C: C	A: A	C: C	C: C	A: A	A: A	A: A	T: T	T: T	G: G	A: A	C: C	G:G	A: A

Фиг. 4H

Генотип	Тип	Стойкость стручков (N)	CMS				Интрогрессия Raphanus													Область POSH		
			SEQIDN03	SEQIDN04	SEQIDN05	SEQIDN01	SEQIDN06	SEQIDN07	SEQIDN08	SEQIDN09	SEQIDN10	SEQIDN11	SEQIDN12	SEQIDN13	SEQIDN14	SEQIDN15	SEQIDN16	SEQIDN17	SEQIDN18	SEQIDN19	SEQIDN20	SEQIDN21
Artoga (1)	длинная интрогрессия, гибрид	2,3	TT:TT	G:A	G:C	C:A	T:A	C:A	C:A	G:A	T:C	C:A	G:A	G:A	G:A	T:A	T:C	G:A	G:A	C:A	G:A	C:A
Albatros (2)	длинная интрогрессия, гибрид	2,7	TT:TT	G:A	G:C	C:A	T:A	C:A	C:A	G:A	T:C	C:A	G:A	G:A	G:A	T:A	T:C	G:A	G:A	C:A	G:A	C:A
Alabaster (3)	длинная интрогрессия, гибрид	2,5	TT:TT	G:A	G:C	C:A	T:A	C:A	C:A	G:A	T:C	C:A	G:A	G:A	G:A	T:A	T:C	G:A	G:A	C:A	G:A	C:A
Dobrava (4)	длинная интрогрессия, гибрид	2,6	TT:TT	G:A	G:C	C:A	T:A	C:A	C:A	G:A	T:C	C:A	G:A	G:A	G:A	T:A	T:C	G:A	G:A	C:A	G:A	C:A
Atenzo (5)	длинная интрогрессия, гибрид	2,7	TT:TT	G:A	G:C	C:A	T:A	C:A	C:A	G:A	T:C	C:A	G:A	G:A	G:A	T:A	T:C	G:A	G:A	C:A	G:A	C:A
Arsenal (6)	длинная интрогрессия, гибрид	2,8	TT:TT	G:A	G:C	C:A	T:A	C:A	C:A	G:A	T:C	C:A	G:A	G:A	G:A	T:A	T:C	G:A	G:A	C:A	G:A	C:A
NSA10/209 (7)	короткая интрогрессия, гибрид	0,8	TT:TT	G:A	G:C	C:A	T:A	C:A	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C
Armstrong (8)	короткая интрогрессия, гибрид	1,0	TT:TT	G:A	G:C	C:A	T:A	C:A	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C
NSA10/211 (9)	короткая интрогрессия, гибрид	0,9	TT:TT	G:A	G:C	C:A	T:A	C:A	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C
Anterra (10)	короткая интрогрессия, гибрид	0,9	TT:TT	G:A	G:C	C:A	T:A	C:A	A:A	G:G	T:T	A:A	G:G	G:G	G:G	A:A	C:C	A:A	G:G	A:A	A:A	C:C
Mescal (11)	длинная интрогрессия, гибрид	2,9	TT:TT	G:A	G:C	C:A	T:A	C:A	C:A	G:A	T:C	C:A	G:A	G:A	G:A	T:A	T:C	G:A	G:A	C:A	G:A	C:A

Фиг. 5

Генотип	POSH (N)	Размер стручков (см)		Интрогрессия Raphanus		Восстанавливающий ген	Интрогрессия Raphanus																		Область POSH		Fruitfull								
		Среднее	Среднее	SEQIDN03	SEQIDN04		SEQIDN05	SEQIDN01	SEQIDN06	SEQIDN07	SEQIDN08	SEQIDN09	SEQIDN10	SEQIDN11	SEQIDN12	SEQIDN13	SEQIDN14	SEQIDN15	SEQIDN16	SEQIDN17	SEQIDN18	SEQIDN19	SEQIDN20	SEQIDN21	SEQIDN22	SEQIDN23	SEQIDN24	SEQIDN25	SEQIDN26	SEQIDN27	SEQIDN28	SEQIDN29			
Amalie	1,5	7,4	GG	GG	GG	CC	TT	AA	AA	GG	TT	AA	GG	GG	GG	AA	CC	AA	GG	AA	AA	CC	GG	TT	GG	AA	CC	AA	TT	CC					
Arabella	1,9	7,3	GG	GG	GG	CC	TT	AA	AA	GG	TT	AA	GG	GG	GG	AA	CC	AA	GG	AA	AA	CC	GG	TT	GG	AA	CC	AA	TT	CC					
R7011-AB	5,2	5,1	TT-П	AA	CC	AA	AA	CC	CC	AA	CC	CC	AA	AA	AA	TT	TT	GG	AA	CC	GG	AA	TT	GG	AA	CC	TT	GG	CC	TT					
Arsenal	5,3	7,9	TT-П	GA	CC	CA	TA	CA	CA	GA	TC	CA	GA	CA	GA	TA	TC	GA	CA	CA	CA	CA	CA	CA											
RD153-101	0,6	6,5	TT-П	GA	CC	CA	AA	CC	AA	GG	TT	AA	GG	GG	GG	AA	CC	AA	GG	AA	AA	CC	GG	TT	GG	AA	CC	AA	TT	CC					
R101540103-AACCBA	2,6	7,2	TT-П	GA	CC	CA	TA	CC	AA	GG	TT	AA	GG	GG	GG	AA	CC	AA	GG	AA	AA	CC	GG	TT	GG	AA	CC	AA	TT	CC					
R51542141-F	4,9	7,7	TT-П	GA	CC	CA	TA	CC	CC	GG	TT	CC	GG	GG	AA	CC	AA	GG	CC	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CA	CA					

Фиг. 6

Генотип	Интрогрессия Raphanus			Восстанавливающий ген	Интрогрессия Raphanus														Область POSH		Fruitfull						
	SEQIDN03	SEQIDN04	SEQIDN05		SEQIDN01	SEQIDN06	SEQIDN07	SEQIDN08	SEQIDN09	SEQIDN10	SEQIDN11	SEQIDN12	SEQIDN13	SEQIDN14	SEQIDN15	SEQIDN16	SEQIDN17	SEQIDN18	SEQIDN20	SEQIDN21	SEQIDN19	SEQIDN22	SEQIDN24	SEQIDN25	SEQIDN26		
03137_2	TT/TT	G/G	G/G	C/C	T/T	A/A	A/A	G/G	T/T	A/A	G/G	G/G	G/G	G/G	A/A	C/C	A/A	G/G	G/G	A/A	C/C	A/A	C/C	T/T	A/A	C/C	T/T
03137_5	TT/TT	G/G	G/G	C/C	T/T	A/A	A/A	G/G	T/T	A/A	G/G	G/G	G/G	A/A	C/C	A/A	G/G	G/G	A/A	C/C	A/A	C/C	T/T	A/A	C/C	T/T	
05627_2	TT/TT	G/G	G/G	A/C	A/T	C/C	A/A	G/G	T/T	A/A	G/G	G/G	G/G	A/A	C/C	A/A	G/G	A/A	C/C	A/A	C/C	A/A	G/G	G/G	A/A	C/C	
05627_3	TT/TT	G/G	G/G	A/C	A/T	C/C	A/A	G/G	T/T	A/A	G/G	G/G	G/G	A/A	C/C	A/A	G/G	A/A	C/C	A/A	C/C	A/A	G/G	G/G	A/A	C/C	
05627_12	TT/TT	G/G	G/G	A/C	A/T	C/C	A/A	G/G	T/T	A/A	G/G	G/G	G/G	A/A	C/C	A/A	G/G	A/A	C/C	A/A	C/C	A/A	G/G	G/G	A/A	C/C	
04013_22	TT/TT	A/G	C/G	A/C	A/A	A/C	A/A	G/G	G/T	C/C	G/G	G/G	G/G	A/A	C/T	A/G	A/G	G/G	A/C	C/C	T/T	A/A	C/C	T/T	A/A	C/C	
F31420031-L-9	TT/TT	A/G	C/G	A/C	A/A	C/C	A/A	G/G	T/T	A/A	G/G	G/G	G/G	A/A	C/C	A/A	G/G	A/A	C/C	A/A	C/C	A/A	G/G	G/G	A/A	C/C	

Фиг. 7

