

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202392781 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.02.21

(22) Дата подачи заявки
2022.04.19

(51) Int. Cl. A01H 1/00 (2006.01)
A01H 5/08 (2018.01)
A01H 6/34 (2018.01)

(54) ИНТРОГРЕССИЯ ЛКП, ПРИДАЮЩИХ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К ВИРУСУ ToLCNDV-ES, В РАСТЕНИЯХ Cucumis sativus

(31) 21169794.1

(32) 2021.04.22

(33) EP

(86) PCT/EP2022/060297

(87) WO 2022/223550 2022.10.27

(71) Заявитель:
НУНХЕМС Б.В. (NL)

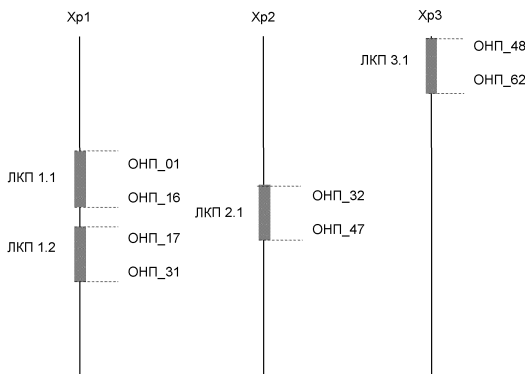
(72) Изобретатель:

Либерти Даниэле (ES), Кулевейн Ханс
Петер, Дридонкс Ники, Кангал Гулей
(NL), Чиновет Роберт (ES)

(74) Представитель:

Беляева Е.Н. (BY)

(57) Настоящее изобретение относится к растениям посевного огурца, содержащим один или более ЛКП на хромосомах 1, 2 и/или 3 своего генома, придающих повышенную резистентность к ToLCNDV-ES, а также к способам получения таких растений и их применению.



A1

202392781

202392781

A1

Интрогрессия ЛКП, придающих резистентность к вирусу ToLCNDV-ES, в растениях *Cucumis sativus*

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Настоящее изобретение относится к области селекции огурцов. Предоставлены четыре локуса количественных признаков (ЛКП), расположенные на хромосоме 1 (ЛКП1.1 и ЛКП1.2), на хромосоме 2 (ЛКП2.1) и на хромосоме 3 (ЛКП3.1) генома огурца, которые можно использовать отдельно или в комбинациях для повышения резистентности посевных огурцов (*Cucumis sativus* вид *sativus*) к ToLCNDV-ES, таких как засолочные огурцы (например, американские и европейские виды засолочных огурцов), салатные огурцы (например, американские салатные огурцы), длинные огурцы, короткие огурцы, европейские тепличные огурцы или огурцы типа Бейт Альфа.

Нью-Дели вирус курчавости листьев томата (ToLCNDV) представляет собой двудольный бегоновирус, который переносится белокрылками, *Bemisia tabaci* Genn. (Hemiptera: Aleyrodidae) и вызывает серьезные симптомы пожелтения и курчавости листьев, а также задержку роста растений у восприимчивых растений-хозяев.

До 2016 года территория распространения ToLCNDV ограничивалась Индией и другими азиатскими странами, где он в основном был представлен растениями-хозяевами семейства *пасленовых*, особенно томатах, однако, с тех пор он был зафиксирован в Испании и других странах Средиземноморского бассейна, где он в основном поражает хозяев семейства *Cucurbitaceae* (*Тыквенные*) (Fortes et al., *Viruses* 2016, 8, 307; doi:10.3390/v8110307).

Средиземноморские изоляты ToLCNDV (также именуемые европейскими изолятами ToLCNDV) именуется ToLCNDV-ES, при этом на данный момент известно, что все изоляты ToLCNDV-ES генетически однородны (идентичны на >99%, Juarez et al, 2019, Natural hosts and genetic diversity of the emerging tomato leaf curl New Delhi virus in Spain. *Frontiers Microbiology*, 10, 140. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00140>) и отличаются от других изолятов ToLCNDV, обнаруженных за пределами Европы.

Несмотря на то, что ToLCNDV-ES поражает томаты (Руиз и др., 2017 г., Биологическая характеристика вируса курчавости листьев томата Нью-Дели из Испании, *Plant Pathology*, 66, 376–382), вирус ToLCNDV-ES, по видимости, плохо адаптирован к этому хозяину и напротив, он очень эффективно поражает Тыквенные, такие как тыква крупноплодная, дыня, огурец и тыква обыкновенная.

Считается, что генетическое единообразие европейских изолятов объясняет их предпочтение и адаптацию к хозяевам семейства *Тыквенные*.

Поскольку изоляты ToLCNDV-ES распространены во всех районах выращивания огурца, где встречается *Bemisia tabaci* (белокрылка табачная), особенно в Испании, Италии, Греции и других странах Средиземноморского региона, а также при выращивании в теплицах в странах Северной Европы, возникла потребность в растениях огурца, устойчивых к вирусу ToLCNDV-ES.

В заявке WO2021019069 (и приоритетном документе WO2021019272) описаны растения огурца, которые устойчивы к Нью-Дели вирусу скручиваемости листьев томата, содержащему в своем геноме первый ЛКП, ЛКП1, на хромосоме 1 и второй ЛКП, ЛКП2 на хромосоме 2, при этом, по меньшей мере, один ЛКП находится в гомозиготной форме. Известно, что двенадцать маркеров ОНП связаны с ЛКП1 (Таблица 3) и 15 с ЛКП2 (Таблица 4), при этом нуклеотид, указывающий на «резистентность», представлен в Таблицах 3 и 4 под заголовком Т-аллель. Изоляты ToLCNDV, к которым присутствует резистентность, не указаны. ЛКП1 и ЛКП2 получены от резистентного донора CUC29 (местный сорт). По оценкам специалистов ЛКП1 и ЛКП2 необходимы для обеспечения резистентности (стр. 7, строки 24-25), а достигнутый уровень толерантности, по видимости, соответствует уровню порядка 7 (более резистентен, чем ИК, но нерезистентен) по шкале 1 (очень восприимчивый) до 9 (резистентный), см. Фиг. 4. Депозит семян был сделан из линии BC1F3, содержащей ЛКП1 и ЛКП2 в гомозиготной форме от CUC29, которой был присвоен идентификационный номер NCIMB43427.

Saez et al. (*Microorganisms* 9, 913), опубликованное 24 апреля 2021 г. исследование под названием «Резистентные источники и генетический контроль резистентности к вирусу ToLCNDV в растении огурца». В ходе исследования было

установлено, что резистентность образца CGN23089 соответствует модели рецессивного моногенного наследования (аннотация). Специалистами сделан следующий вывод: «Наш анализ наследования показывает, что резистентность к ToLCNDV в образце CGN23089 в основном контролируется одним рецессивным геном, и это подтверждается обнаружением одного ЛКП на хромосоме 2 генома *C. sativus*. Ближайшим картированным маркером являлся SNPC2_3, расположенный в физическом положении 12 760 375 п.о. генома огурца Gy_14v2 (что соответствует положению 12 910 596 китайского длинного генома V3). В Таблице S3 идентифицировано более 490 генов, расположенных в области вокруг SNPC2_3, которые должны содержать гены-кандидаты для резистентности к ToLCNDV.

Таким образом, существует необходимость обеспечить резистентность к изолятам ToLCNDV-ES у огурца, что позволит защитить растения огурца от указанных изолятов.

По тексту настоящей заявки картированы четыре ЛКП, называемые ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1, см. Фиг. 1. Три ЛКП на хромосоме 1 и хромосоме 2 являются основными ЛКП, ЛКП на хромосоме 3 является более второстепенным, но все же существенным ЛКП. Дикий донор ЛКП и семена линии F3, в которую были интродуцированы все четыре ЛКП (и репрезентативный образец семян которых был депонирован заявителем под идентификационным номером NCIMB43745), обладают высокой резистентностью к ToLCNDV-ES без возникновения каких-либо симптомов (средний индекс заболеваемости 9,0 по шкале от 2,0 до 9,0, где 2,0 означает «листья полностью покрыты мозаикой пожелтения», а 9,0 – отсутствие симптомов).

Для каждого из четырех ЛКП предусмотрены маркеры ОНП (однонуклеотидный полиморфизм), которые связаны с ЛКП и которые можно использовать для обнаружения растений или частей растений, содержащих один или более ЛКП, выбора одного или более ЛКП в программах селекции или идентификации иных диких доноров, которые содержат один или более ЛКП.

Например, по тексту настоящей заявки идентифицированы другие доноры, которые содержат тот же или почти такой же гаплотип ОНП для указанных четырех ЛКП и обладают резистентностью к ToLCNDV-ES.

Таким образом, одним аспектом настоящей заявки предусмотрены посевные растения огурца и части растений, содержащие один или более из следующих фрагментов интрогрессии: фрагмент интрогрессии на хромосоме 1, содержащей ЛКП1.1, фрагмент интрогрессии на хромосоме 1, содержащей ЛКП1.2, фрагмент интрогрессии на хромосоме 2, содержащей ЛКП2.1, и фрагмент интрогрессии на хромосоме 3, содержащей ЛКП3.1, при этом фрагменты интрогрессии (в количестве один или более) значительно повышают резистентность посевного огурца к ToLCNDV-ES, содержащего (один или более) фрагменты интрогрессии по сравнению с тем же (или контрольным) посевным огурцом, в котором отсутствуют все фрагменты интрогрессии.

Фрагменты интрогрессии, содержащей ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1, переходят от дикого или примитивного донора огурца, который обладает высокой резистентностью к ToLCNDV-ES. ЛКП были идентифицированы в различных картируемых популяциях, полученных путем скрещивания растения-донора с различными культивируемыми линиями огурца, такими как элитная линия французского салатного огурца, элитная линия европейского длинного огурца и элитная линия испанского черного салатного огурца. Депонированные семена, содержащие все четыре ЛКП в гомозиготной форме, взяты из одной из популяций салатных огурцов. Из указанного типа каждый ЛКП может быть легко перенесен в любой другой культивируемый тип огурца, например, в короткие типы огурцов, или в селекционные линии или сорта длинных огурцов, или в линии или сорта салатного огурца. Семена, содержащие фрагмент интрогрессии, содержащей ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1, были депонированы под идентификационным номером NCIMB43745.

Также в тексте настоящей заявки представлены один или более молекулярных маркеров (особенно маркеров однонуклеотидного полиморфизма или ОНП), которые присутствуют на каждом фрагменте интрогрессии и указывают на наличие фрагмента интрогрессии, а также способы использования таких маркеров. Аналогичным образом предоставлены семена, части растений, клетки и/или ткани, содержащей ЛКП1.1 и/или ЛКП1.2 и/или ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 в своем геноме и содержащие в своем геноме геном посевного огурца. Обратите внимание, что термин «геном посевного огурца» не

исключает наличия во всем геноме других фрагментов интрогрессии, например, на других хромосомах и/или по другим признакам.

Аналогичным образом предусмотрены семена, части растений, клетки и/или ткани посевного огурца, содержащей ЛКП1.1 и/или ЛКП1.2, и/или ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1. В предпочтительном аспекте предусмотрены семена, части растений и/или ткани посевного огурца, содержащей ЛКП1.1 и ЛКП1.2, или содержащей ЛКП1.1 и ЛКП1.2 и ЛКП2.1, или содержащей ЛКП1.1. и ЛКП2.1 или содержащей ЛКП1.2 и ЛКП2.1. Ввиду того, что каждый из ЛКП1.1, ЛКП1.2 и ЛКП3.1 обладает аддитивным эффектом, растения и части растений, содержащие один или более указанных трех ЛКП, также являются вариантом реализации изобретения по настоящей заявке, например, в гетерозиготной или гомозиготной форме. Также настоящей заявкой предусмотрены растения и части растений, содержащие все четыре ЛКП, предпочтительно в гомозиготной форме или, по меньшей мере, ЛКП2.1, представленный в гомозиготной форме.

ЛКП, обладающий аддитивным эффектом, означает, что, когда ЛКП находится в гетерозиготной форме, его влияние на резистентность к ToLCNDV-ES меньше, чем когда ЛКП находится в гомозиготной форме, но все же значительно выше контрольной линии, в которой ЛКП отсутствует. Любой из ЛКП1.1, ЛКП1.2 и ЛКП3.1 обладает таким аддитивным эффектом, что означает, что эти ЛКП можно использовать в гетерозиготной форме или в гомозиготной форме. ЛКП2.1, с другой стороны, имеет рецессивный или частично рецессивный эффект, что означает, что влияние на резистентность к ToLCNDV-ES в основном наблюдается в случаях, когда ЛКП2.1 представлен в гомозиготной форме. На определенных фонах также может наблюдаться незначительный эффект, когда ЛКП2.1 находится в гетерозиготной форме (т.е. ЛКП2.1 частично рецессивен на определенных фонах).

Как видно из примеров, наличие всех четырех ЛКП приводит к самому высокому уровню резистентности. Тем не менее, комбинации трех ЛКП также позволили получить очень высокую резистентность со средним индексом выше 8,0. Отдельные ЛКП слегка повышали резистентность, причем более высокое увеличение наблюдалось в случае с двумя ЛКП. Таким образом, растения и части растений,

содержащие, по меньшей мере, три ЛКП, выбранных из ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1, являются одним из аспектов изобретения, предусмотренного настоящей заявкой. Кроме того, растения и части растений, содержащие, по меньшей мере, ЛКП1.1 отдельно или в комбинации, по меньшей мере, с одним дополнительным ЛКП, выбранным из ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1, или, по меньшей мере, с двумя дополнительными ЛКП, выбранными из ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1, являются одним из вариантов реализации изобретения по настоящей заявке. В другом аспекте растения и части растений содержат, по меньшей мере, ЛКП3.1 отдельно или в комбинации, по меньшей мере, с одним дополнительным ЛКП, выбранным из ЛКП1.1, ЛКП1.2 и ЛКП2.1, или в комбинации, по меньшей мере, с двумя дополнительными ЛКП, выбранными из ЛКП1.1, ЛКП1.2 и ЛКП2.1, являются одним из вариантов реализации изобретения по настоящей заявке.

В одном аспекте растения, семена, части растений, клетки и/или ткани посевного огурца содержат фрагмент интрогрессии из дикого или примитивного огурца, отличающийся тем, что фрагмент интрогрессии содержит ЛКП1.1, который физически расположен в области, начинающейся с нуклеотида 8235142 (соответствующего - ОНП_01 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 01) и заканчивающегося на нуклеотиде 16209127 (соответствующем - ОНП_16 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 16) хромосомы 1, со ссылкой на хромосому 1 эталонного генома V3 китайского длинного огурца (cucurbitgenomics.org). В одном аспекте, фрагмент интрогрессии содержащий ЛКП1.1 содержит донорный нуклеотид для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или более SNP маркеров, выбранных из ОНП_01 - ОНП_16, особенно для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или более SNP маркеров, выбранных из ОНП_02 - ОНП_15. В одном аспекте, указанные, по меньшей мере, 5 маркеров включают или более из следующих маркеров ОНП: ОНП_10 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 10 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 10, ОНП_11 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 11 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 11 и/или ОНП_15 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 15 или в эквивалентной позиции в

последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 15.

В одном аспекте растения, семена, части растений, клетки и/или ткани посевного огурца содержат фрагмент интрогрессии из дикого или примитивного огурца, отличающегося тем, что фрагмент интрогрессии содержит ЛКП1.2, который физически расположен в области, начинающейся с нуклеотида 22942981 (соответствующего - ОНП_17 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 17) и заканчивающегося на нуклеотиде 25543032 (соответствующем - ОНП_31 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 31) хромосомы 1, со ссылкой на хромосому 1 эталонного генома V3 китайского длинного огурца (cucurbitgenomics.org). В одном аспекте, фрагмент интрогрессии содержащий ЛКП1.2 содержит донорный нуклеотид для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или более SNP маркеров, выбранных из ОНП_17 - ОНП_31, особенно для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или более SNP маркеров, выбранных из ОНП_18 - ОНП_30. В одном аспекте, указанные, по меньшей мере, 5 маркеров включают или более из следующих маркеров SNP: ОНП_22 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 22 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 22 и/или ОНП_23 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 23 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 23 и/или ОНП_25 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 25 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 25 и/или ОНП_26 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 26 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 26 и/или ОНП_28 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 28 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 28 и/или ОНП_29 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 29 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 29.

В одном аспекте растения, семена, части растений, клетки и/или ткани посевного огурца содержат фрагмент интрогрессии из дикого или примитивного

огурца, отличающегося тем, что фрагмент интрогрессии содержит ЛКП2.1, который физически расположен в области, начинающейся с нуклеотида 15218569 (соответствующего - ОНП_32 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 32) и заканчивающегося на нуклеотиде 19535432 (соответствующем - ОНП_47 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 47) хромосомы 2, со ссылкой на хромосому 2 эталонного генома V3 китайского длинного огурца (cucurbitgenomics.org). В одном аспекте, фрагмент интрогрессии comprising ЛКП2.1 содержит донорный нуклеотид для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или более SNP маркеров, выбранных из ОНП_32 - ОНП_47, особенно для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или более SNP маркеров, выбранных из ОНП_33 - ОНП_46. В одном аспекте, указанные, по меньшей мере, 5 маркеров включают или более из следующих маркеров SNP: ОНП_41 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 41 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 41 и/или ОНП_45 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 45 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 45.

В одном аспекте растения, семена, части растений, клетки и/или ткани посевного огурца содержат фрагмент интрогрессии из дикого или примитивного огурца, отличающегося тем, что фрагмент интрогрессии содержит ЛКП3.1, который физически расположен в области, начинающейся с нуклеотида 3637 (соответствующего - ОНП_48 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 48) и заканчивающегося на нуклеотиде 3885803 (соответствующем - ОНП_62 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 62) хромосомы 3, со ссылкой на хромосому 3 эталонного генома V3 китайского длинного огурца (cucurbitgenomics.org). В одном аспекте, фрагмент интрогрессии comprising ЛКП3.2 содержит донорный нуклеотид для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или более SNP маркеров, выбранных из ОНП_48 - ОНП_62, особенно для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или более SNP маркеров, выбранных из ОНП_49 - ОНП_61. В одном аспекте, указанные, по меньшей мере, 5 маркеров включают или более из следующих маркеров SNP: ОНП_49 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 49 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 49 и/или ОНП_50 на нуклеотиде 51

SEQ ID NO: 50 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 50 и/или ОНП_51 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 51 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 51 и/или ОНП_52 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 52 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 52 и/или ОНП_55 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 55 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 55 и/или ОНП_57 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 57 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 57 и/или ОНП_58 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 58 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 58 и/или ОНП_60 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 60 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 60.

В одном аспекте растение посевного огурца *Cucumis sativus* сорт *sativus*, содержащее один или более фрагментов интрогрессии из дикого донорского огурца, выбранных из ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1, в гомозиготной или гетерозиготной форме, причем указанный фрагмент интрогрессии включает в себя

- locus количественного признака (ЛКП1.1), расположенный между маркером однонуклеотидного полиморфизма ОНП_01 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 1 (или вариант SEQ ID NO: 1) и маркер однонуклеотидного полиморфизма ОНП_16 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 16 (или вариант SEQ ID NO: 16), придаваемый ЛКП и обеспечивающий повышенную резистентность к ToLCNDV-ES в гомозиготной или гетерозиготной форме,
- locus количественного признака (ЛКП1.2), расположенный между маркером однонуклеотидного полиморфизма ОНП_17 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 17 (или вариант SEQ ID NO: 17) и маркер однонуклеотидного полиморфизма ОНП_31 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 31 (или вариант SEQ ID NO: 31),

- придаваемый ЛКП и обеспечивающий повышенную резистентность к ToLCNDV-ES в гомозиготной или гетерозиготной форме,
- locus количественного признака (ЛКП2.1), расположенный между маркером однонуклеотидного полиморфизма ОНП_32 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 32 (или вариант SEQ ID NO: 32) и маркер однонуклеотидного полиморфизма ОНП_47 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 47 (или вариант SEQ ID NO: 47), придаваемый ЛКП и обеспечивающий повышенную резистентность к ToLCNDV-ES в гомозиготной форме,
 - locus количественного признака (ЛКП3.1), расположенный между маркером однонуклеотидного полиморфизма ОНП_48 в нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 48 (или вариант SEQ ID NO: 48) и маркер однонуклеотидного полиморфизма ОНП_62 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 62 (или вариант SEQ ID NO: 62), придаваемый ЛКП и обеспечивающий повышенную резистентность к ToLCNDV-ES в гомозиготной или гетерозиготной форме.

В одном аспекте, ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 (т.е. фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКП) присутствуют в гетерозиготной форме в растении, клетке или ткани посевного огурца, особенно длинного огурца или салатного огурца. В одном аспекте, по меньшей мере, ЛКП2.1 присутствует в гомозиготной форме в растении, клетке или ткани посевного огурца.

В другом аспекте ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 (т.е. интрогрессии фрагментов, содержащих ЛКП) присутствуют в гомозиготной форме в растении, клетке или ткани посевного огурца, особенно длинного огурца или салатного огурца.

В конкретном аспекте растение посевного огурца представляет собой гибрид F1, особенно гибрид F1, полученный путем скрещивания двух инбредных родительских линий, при этом, по меньшей мере, одна из родительских линий содержит ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 (т.е. фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКП), предпочтительно в гомозиготной форме. В одном аспекте, по меньшей мере, одна, предпочтительно обе родительские линии содержат ЛКП2.1 в гомозиготной форме, так что гибрид F1 содержит ЛКП2.1 в гомозиготной форме.

В одном аспекте донор одного или более ЛКП выбирается из донора, содержащего тот же гаплотип ОНП для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 маркеров ОНП для каждого из четырех ЛКП, присутствующие в семенах, депонированных под номером NCIMB 43745, депонированных в соответствии с Будапештским договором от 5 марта 2021, Nunhems B.V. Таким образом, в одном аспекте семена или потомство семян, депонированных под номером NCIMB43745 (содержащее все четыре ЛКП), могут использоваться в качестве донора для одного или более из четырех ЛКП или других доноров, таких как PI605996, PI197087, CGN22263 или CGN22932, либо дикий донор, который имеет тот же гаплотип ОНП для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 маркеров ОНП, описанных по тексту настоящей заявки применительно к ЛКП, присутствующим в NCIMB43745, можно использовать в качестве донора для одного или более из четырех ЛКП.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Посевной огурец (*Cucumis sativus* сорт *sativus* L.) – важная овощная культура во всем мире. Он относится к семейству *Тыквенные*. Считается, что он произошел из Юго-Восточной Азии от диких предков с маленькими горькими плодами, таких как *Cucumis sativus* сорт *hardwickii*.

Геном посевного огурца включает в себя семь пар хромосом ($n = 7$) и размер гаплоидного генома порядка 367 МБ (мегабазы), а количество генов оценивается на уровне порядка 26 682 генов. Геном огурца был первым геномом овоща, который был секвенирован (Huang et al., 2009 г., Nature Genetics, том 41, номер 12, p1275-1283).

В последние годы в Европе сформировались изоляты ToLCNDV, более адаптированные к видам-хозяева семейства *Тыквенные*, таким как огурец. Эти изоляты, получившие название ToLCNDV-ES, приводят к снижению урожайности в полевых условиях, а также в защищенных условиях, при выращивании огурцов в районах, где белокрылки переносят и передают вирус. На сегодняшний день резистентных сортов огурцов не существует. Таким образом, существует необходимость в выращивании огурцов, которые обладают резистентностью к ToLCNDV-ES. Также необходимо разработать, например, доноры дикого огурца,

основания ЛКП, которые придают или повышают резистентность к ToLCNDV-ES, и способы идентификации таких доноров.

ФИГУРЫ

На Фигуре 1 представлена схематическая диаграмма хромосом 1, 2 и 3, содержащих сцепленные ЛКП1.1 - ОНП_01 - ОНП_16, сцепленные ЛКП1.2 - ОНП_17 - ОНП_31, сцепленные ЛКП2.1 - ОНП_32 - ОНП_47 и сцепленные ЛКП3.1 - ОНП_48 - ОНП_62.

На Фигуре 2 представлены фотографии листьев огурца с определенным индексом активности заболевания, использованным в анализе заболеваемости в результате действия ToLCNDV-ES. Фенотипирование проводится по шкале от 2,0 до 9,0 (симптомы отсутствуют), как, например, описано в примерах. Отмечается, что симптомы сложно воспроизвести в черно-белом виде.

На Фигуре 3 схематически показаны положения ЛКП1 и ЛКП2 от донора CUC29 Vilmorin WO2021/019069 с использованием черных полос. Маркеры SNP донора CUC29 указаны слева от черной полосы. Маркеры SNP донора CUC29, который имеет в геноме другой нуклеотид ОНП по сравнению с донором по настоящему изобретению, выделены жирным. Видно, что маркеры ОНП_29, ОНП_30 и ОНП_31 по настоящему изобретению (ЛКП1.2) находятся внутри области ЛКП1 донора CUC29. Видно, что маркеры ОНП_41-ОНП_45 по настоящему изобретению (ЛКП2.1) находятся внутри области ЛКП2 донора CUC29.

На Фигуре 4 показана коробчатая диаграмма уровней вируса ToLCNDV-ES в верхних листьях разных генотипов по состоянию на два момента времени после инокуляции. Резистентные генотипы содержат очень низкие уровни вируса по сравнению с восприимчивыми растениями.

ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Неопределенный артикль «а» или «an» не исключает возможности присутствия более одного элемента за исключением случаев, когда из контекста явно не

предусмотрено наличие одного и только одного элемента. Таким образом, неопределенный артикль «а» или «an» обычно означает «по меньшей мере, один».

По тексту настоящей заявки термин «растение» включает в себя все растение или любые его части или производные, такие как органы растения (например, собираемые или несобираемые в сельскохозяйственных целях запасные органы, клубни, плоды, листья, семена и т.д.), растительные клетки, растительные протопласты, растительные клетки или культуры тканей, из которых можно регенерировать целые растения, растительные каллусы, скопления растительных клеток и растительные клетки, которые неповреждены в растениях или частях растений, таких как зародыши, пыльца, семязачатки, завязи, фрукты (например, собранные ткани или органы, такие как собранные плоды огурца или их части), цветы, листья, семена, клубни, луковицы, клонально размноженные растения, корни, подвои, стебли, кончики корней и т.д. Также сюда входят растения на любой стадии развития, например, саженцы, незрелые и зрелые растения, и т.д. «Семена растения» обозначают либо семена, из которых можно вырастить растение, либо к семена, полученные на растении после самоопыления или перекрестного опыления.

«Сорт растения» представляет собой группу растений в рамках одного известного ботанического таксона низшего класса, которая (независимо от того, выполняются ли или нет условия для признания права селекционера) может быть определена на основе выраженности черт, которые получаются из определенного генотипа или комбинации генотипов, в отношении которой могут быть проведены различия от любой другой группы растений в результате степени выраженности, по меньшей мере, одной из этих черт, и которая может рассматриваться как единое целое, так как при ее размножении изменений не происходит. Соответственно, термин «сорт растения» не может использоваться для обозначения группы растений, даже если они относятся к одному и тому же виду, если все они характеризуются наличием нескольких локусов или генов (или фенотипических характеристик, обусловленных указанными специфическими локусами или генами), которые при этом в остальном могут сильно отличаться друг от друга в части других локусов или генов. Таким образом, например, растение, определяемое только наличием одного или более ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1 не является сортом растения, поскольку тысячи

других генов, определяющих сорт растения, не определены, а растение, определяемое только на основании наличия ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1, не является единообразным и стабильным для указанных тысяч генов и характеристик, придаваемых этими генами. ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1 могут использоваться для получения множества различных сортов растений, например, длинного сорта огурца, который является однородным и стабильным по всем своим физиологическим и морфологическим характеристикам, таким как размер или форма листьев, края и цвет листьев, размер и цвет плодов, наросты, горечь, высота растения и т.д. и который также содержит один или более ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1.

«F1, F2, F3 и т.д.» относится к последовательным родственным поколениям, возникшим после скрещивания двух родительских растений или родительских линий. Растения, выращенные из семян, полученных путем скрещивания двух растений или линий, называются поколением F1. Самоопыление растений F1 приводит к образованию поколения F2 и т.д.

«Гибридное растение F1» (или гибридное семя F1) – это поколение, полученное в результате скрещивания двух инбредных родительских линий. Таким образом, гибридные семена F1 представляют собой семена, из которых вырастают гибридные растения F1. Гибриды F1 более жизнеспособны и более урожайны благодаря гетерозису. Инбредные линии по существу гомозиготны по большинству локусов генома.

«Линия растения» или «линия селекции» относится к растению и его потомству. По тексту настоящей заявки термин «инбредная линия» обозначает линию растений, которая неоднократно подвергалась самоопылению и является почти гомозиготной. Таким образом, «инбредная линия» или «родительская линия» относится к растению, которое претерпело несколько поколений (например, по меньшей мере, 5, 6, 7 или более) инбридинга, в результате чего была получена линия растения с высокой однородностью.

Термин «аллель(-и)» означает одну или более альтернативных форм гена в конкретном локусе, аллели всех из которых относятся к одному признаку или характеристике в конкретном локусе. В диплоидной клетке организма аллели данного

гена расположены в определенном месте или локусе (множественном числе локусов) на хромосоме. На каждой хромосоме пары гомологичных хромосом присутствует один аллель. Диплоидные виды растений могут содержать большое количество различных аллелей в определенном локусе. Это могут быть одинаковые аллели гена (гомозиготные) или два разных аллеля (гетерозиготные). Таким образом, в рамках настоящей заявки, например, можно говорить об «аллеле резистентности к вирусу ToLCNDV-ES» локусов ЛКП1.1, ЛКП 1.2, ЛКП 2.1 или ЛКП3.1.

Термин «ген» означает (геномную) последовательность ДНК, содержащую область (транскрибируемую область), которая транскрибируется в молекулу информационной РНК (мРНК) в клетке, и функционально связанную регуляторную область (например, промотор). Таким образом, разные аллели гена представляют собой разные альтернативные формы гена, которые могут иметь форму, например, различия в одном или нескольких нуклеотидах последовательности геномной ДНК (например, в последовательности промотора, последовательностях экзонов, последовательностях интронов и т.д.), мРНК и/или аминокислотной последовательности кодируемого белка.

Термин «локус» («локусы» в множественном числе) означает конкретное место или места или участка на хромосоме, где обнаружен, например, ЛКП, ген или генетический маркер. Локус ToLCNDV-ES (или локус резистентности к ToLCNDV-ES), таким образом, представляет собой место в геноме огурца, где встречается ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 или ЛКП3.1. В посевных огурцах ЛКП встречаются на хромосомах 1, 2 и 3 (с использованием распределения хромосом, описанного в работе авторства Huang *et al.*, 2009, Nature Genetics, том 41, номер 12, стр. 1275-1283) и в сети Интернет по адресу: [//cucurbitgenomics.org/](http://cucurbitgenomics.org/), геном огурца (китайский длинный) v3) т.е. они интрогрессируются в геном посевного огурца (т.е. в хромосому 1, 2 и/или 3) от дикого или примитивного донора огурца.

«Локус количественного признака», или «ЛКП», представляет собой хромосомный локус, который кодирует один или несколько аллелей, влияющих на экспрессивность непрерывно распределенного (количественного) фенотипа. Локусы

количественных признаков устойчивости к ToLCNDV-ES по тексту настоящей заявки именуется ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1.

«Геном огурца» и «физическое положение в геноме огурца» и «хромосома 1, 2 или 3» обозначают физический геном посевного огурца, сеть Интернет, адрес [//cucurbitgenomics.org/](http://cucurbitgenomics.org/), геном огурца (китайский длинный v3), а также физические хромосомы и физическое положение хромосом. Так, например, ОНП_01 расположен на нуклеотиде (или «основании»), физически расположенном на нуклеотиде 8235142 хромосомы 1.

«Физическое расстояние» между локусами (например, между молекулярными маркерами и/или между фенотипическими маркерами) на одной и той же хромосоме – это фактическое физическое расстояние, выраженное в основаниях или парах оснований (п.о.), килооснованиях или килооснованиях (кб), или мегабазах, или мегабазах пар оснований (Мб).

«Генетическая дистанция» между локусами (например, между молекулярными маркерами и/или между фенотипическими маркерами) на одной и той же хромосоме измеряется частотой кроссинговера или частотой рекомбинации (ЧР) и измеряется в сантиморганах (сМ). Один сМ соответствует частоте рекомбинации 1%. В случае отсутствия рекомбинантов, RF равен нулю и локусы либо физически очень близки друг к другу, либо идентичны. Чем дальше друг от друга расположены два локуса, тем выше ЧР.

«Фрагмент интрогрессии» или «сегмент интрогрессии» или «область интрогрессии» обозначает фрагмент хромосомы (или часть или область хромосомы), который был введен в другое растение того же или родственного вида путем скрещивания или с использованием традиционных методов селекции, таких как обратное скрещивание, т.е. фрагмент интрогрессии является результатом методов селекции, обозначаемых глаголом «интрогрессировать» (например, обратное скрещивание). Что касается огурца, то для внедрения фрагментов дикого генома в геном посевного огурца можно использовать дикие или примитивные образцы огурца (например, местные сорта) или дикие родственные растения посевного огурца *Cucumis sativus* сорт *sativus* L. Таким образом, посевное растение огурца имеет «геном

посевного *Cucumis sativus* сорт *sativus* L., но содержит в своем геноме фрагмент дикого или примитивного огурца или дикого родственника огурца, например. фрагмент интрогрессии родственного дикого растения *Cucumis sativus*, например, такого как *Cucumis sativus* сорт *hardwickii*, *C. sativus* сорт *sikkimensis* *Cucumis sativus* сорт *xishuangbannensis*, или другого дикого огурца или дикого родственника огурца. Так, например, настоящей заявкой предусмотрен посевной огурец, содержащий геном посевного огурца, и в указанном геноме содержатся один, два, три или четыре фрагмента интрогрессии на хромосоме 1, 2 и/или 3 посевного огурца, которые придают повышенную резистентность к ToLCNDV-ES по сравнению с геномом посевного огурца без фрагмента интрогрессии (и имеющим хромосомы 1, 2 и 3 посевного огурца без фрагмента интрогрессии). По тексту настоящей заявки принято, что термин «фрагмент интрогрессии» ни в одном случае не включает в себя всю хромосому, а лишь часть хромосомы. Фрагмент интрогрессии может быть большим, например, составлять даже три четверти или половину хромосомы, но предпочтительно меньше, например, около 15 Мб или меньше, например, около 10 Мб или меньше, около 9 Мб или меньше, около 8 Мб или меньше, около 7 Мб или меньше, около 6 Мб или меньше, около 5 Мб или меньше, около 4 Мб или меньше, около 3 Мб или меньше, около 2,5 Мб или 2 Мб или меньше, около 1 Мб (равен 1 000 000 парам оснований) или меньше, или около 0,5 Мб (равен 500 000 пар оснований) или менее, например, около 200 000 п.о. (соответствует 200 тысячам пар оснований) или меньше, около 100000 п.о. (100 кб) или менее, около 50000 п.н. (50 кб) или менее, около 25000 п.о. (25 кб) или менее, около 100000 п.о. (100 кб) или менее, около 50000 п.о. (50 кб) или меньше, около 25000 п.о. (25 кб) или меньше.

«Посевной огурец» или «одомашненный огурец» обозначает растения *Cucumis sativus* сорт *sativus*, селекционные линии или сорта, выращенные человеком и имеющие хорошие сельскохозяйственные характеристики, в частности дающие съедобные и товарные плоды хорошего размера, качества и однородности; такие растения не являются растениями «дикого огурца» или «примитивного огурца», т.е. растениями, для которых характерна гораздо более низкая урожайность и худшие сельскохозяйственные характеристики, чем у посевных растений, и менее однородны генетически и по своим физиологическим и/или морфологическим характеристикам.

«Дикие растения» «дикого огурца» включают в себя, например, экотипы, местные сорта или дикие образцы или дикие родственники вида. Посевные растения огурца (линии или сорта) также можно отличить от диких или примитивных образцов огурца по значительно меньшему количеству ОНП (менее 2 000 000 ОНП) и вставок/делеций (вставки/делеции короче 5 пар оснований; менее 150 000 вставок/делеций) в геноме и их значительно более низкое нуклеотидное разнообразие (равное или менее $2,3 \times 10^{-3}$ п), как описано в Таблице 1, Qi *et al.*, Nature Genetics, декабрь 2013 г., том 45, № 12, страницы 1510–1518. Количество ОНП, количество вставок/делеций и разнообразие нуклеотидов можно определить с использованием методов, описанных по тексту настоящей заявки, в частности в разделе «Онлайн-методы».

«Индийская группа огурцов» обозначает дикие огурцы или дикие родственники огурцов из Индии, имеющие большое количество ОНП (более 3 000 000 ОНП) и вставки/делеции (вставки/делеции короче 5 пар оснований; более 200 000 вставок/делеций) в геноме и высокое нуклеотидное разнообразие (более $3,0 \times 10^{-3}$ п или даже более $4,0 \times 10^{-3}$ п).

«Евразийская группа огурцов» обозначает посевные огурцы из Центральной или Западной Азии, Европы и США, имеющие небольшое количество ОНП (менее 2 000 000 SNP или менее 1 500 000 ОНП) и вставок/делеций (вставок/делеций длиной менее 5 пар оснований; менее (более 150 000 вставок/делеций) в геноме и низкое разнообразие нуклеотидов (не более $2,3 \times 10^{-3}$ п, предпочтительно менее $2,0 \times 10^{-3}$ п).

«Восточноазиатская группа огурцов» обозначает посевные огурцы из Восточной Азии, из таких стран как Китай, Корея и Япония, имеющие небольшое количество ОНП (менее 2 000 000 ОНП или менее 1 500 000 ОНП) и вставок/делеций (вставок/делеций короче 5 пар оснований; менее 150 000 вставок/делеций, предпочтительно менее 100 000) в геноме и низкое нуклеотидное разнообразие (не более $2,3 \times 10^{-3}$ п, предпочтительно менее $2,0 \times 10^{-3}$ п или даже меньше $1,5 \times 10^{-3}$ п).

«Группа огурцов Сишуанбаньна» относится к огурцам из региона Сишуанбаньна в Китае, имеющим небольшое количество ОНП (менее 2 000 000 ОНП, или менее 1 500 000 ОНП или даже менее 100 000 ОНП) и вставок/делеций (вставок/делеций длиной менее 5 пар оснований; менее 150 000 вставок/делеций,

предпочтительно менее 100 000) в геноме и низкое нуклеотидное разнообразие (не более $2,3 \times 10^{-3}$ п, предпочтительно менее $2,0 \times 10^{-3}$ п или даже менее $1,5 \times 10^{-3}$ п).

«Дикий огурец» или «примитивный огурец» относится к *C. sativus* сорт *sativus*, который обычно характеризуется гораздо более низкой урожайностью и худшими сельскохозяйственными характеристиками, чем посевные растения, и является менее однородным генетически, а также по своим физиологическим и/или морфологическим характеристикам. Дикое растение включает в себя, например, экотипы, местные сорта или дикие образцы или диких родственников вида.

«Дикие родственники огурца» обозначают *Cucumis sativus* сорт *hardwickii*, *C. sativus* сорт *sikkimensis*, *Cucumis sativus* сорт *xishuangbannensis*.

«Местный сорт(-а)» обозначает примитивные сорта *Cucumis sativus* сорт *sativus*, которые развиваются локально в географических регионах, которые часто демонстрируют высокую степень генетической изменчивости в своем геноме, а также высокую степень морфологической и/или физиологической изменчивости внутри местного сорта (например, большие различия в размерах плодов и т.д.), т.е. являются значительно менее однородными, чем посевной огурец. Таким образом, по тексту настоящей заявки местные сорта включены в группу «дикий огурец», которая отличается от «посевого огурца».

«Однородность» или «однородный» относится к генетическим и фенотипическим характеристикам линии или сорта растения. Инбредные линии генетически являются высоко однородными, поскольку формируются в результате нескольких поколений инбридинга. Аналогично, гибриды F1, полученные из таких инбредных линий, являются высоко однородными по своим генотипическим и фенотипическим характеристикам и свойствам.

Термин «аллель резистентности к ToLCNDV-ES» относится к аллелю, обнаруженному в локусе ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1. интрогрессированому в посевной огурец (на хромосому 1, 2 и/или 3 посевного огурца *C. sativus* сорт *sativus*) от дикого или примитивного огурца. Таким образом, термин «аллель резистентности к ToLCNDV-ES» также включает в себя аллели, полученные от других сортов *Cucumis*. При наличии одного или двух аллелей устойчивости к

ToLCNDV-ES в локусе ЛКП1.1, ЛКП1.2 и/или ЛКП3.1 в геноме (т.е. в гетерозиготной или гомозиготной форме) или при наличии двух аллелей резистентности к ToLCNDV-ES в локусе ЛКП2.1 (т.е. в гомозиготной форме), линия или сорт растения обладает значительно более высокой резистентностью к ToLCNDV-ES по сравнению с контрольным или генетическим контрольным растением без ЛКП. У посевного растения огурца отсутствует фрагмент интрогрессии, аллель *C. sativus* сорт *sativus*, обнаруживаемый на том же локусе на хромосоме 1, 2 и 3 по тексту настоящей заявки именуемый аллелем «дикого типа» (∂m). Ввиду того, что ЛКП2.1 является рецессивным или частично рецессивным, данный ЛКП предпочтительно находится в гомозиготной форме, тогда как другие ЛКП могут представлены в гетерозиготной или гомозиготной форме. Генотип маркеров ОНП, предусмотренных настоящей заявкой, также указывает на дикий тип или ЛКП в гомозиготной или гетерозиготной форме. Например, генотип ОНП_01, указывающий на ЛКП1.1, представляет собой «TG» ($ЛКП1.1/\partial m$) или «ТТ» ($ЛКП1.1/ЛКП1.1$), тогда как генотип указывает на дикий тип, т.е. у посевного огурца – «GG» ($\partial m/\partial m$). Генотип ОНП_02, указывающий на ЛКП1.1, представляет собой «ТС» ($ЛКП1.1/\partial m$) или «ТТ» ($ЛКП1.1/ЛКП1.1$), тогда как генотип указывает на дикий тип, т.е. у посевного огурца – «СС» ($\partial m/\partial m$). Аналогично, гаплотип SNP для ОНП_01 и ОНП_02 – «ТТ», а генотип ОНП для ОНП_01 и ОНП_02 – «ТТ-ТТ»).

По тексту настоящей заявки указывается, что элемент, фрагмент интрогрессии, ген или аллель, придающие признак (например, резистентность к ToLCNDV-ES), «получены из», или могут быть «получены из», или «получают из», либо «присутствуют в» или «обнаруживаются в» растении, семени, ткани или клетке, если его можно перенести из растения или семени, в котором он присутствует, в другое растение или семя, в котором он отсутствует (например, линию или сорт) с использованием традиционных методов селекции, не приводя к фенотипическому изменению растения-реципиента, за исключением добавления признака, придаваемого генетическим элементом, локусом, фрагментом интрогрессии, геном или аллелем. Указанные термины являются взаимозаменяемыми, и генетический элемент, локус, фрагмент интрогрессии, ген или аллель, таким образом, могут быть перенесены в любой другой генетический фон, в котором отсутствует данный признак.

Есть возможность использовать не только семена, депонированные и содержащие генетический элемент, локус, фрагмент интрогрессии, ген или аллель, но и потомство/потомков семян, которые были отобраны для сохранения генетического элемента, локуса, фрагмента интрогрессии, гена или аллеля, могут быть использованы и предусмотрены настоящей заявкой, например, коммерческие сорта, выведенные из депонированных семян или их потомков. Факт наличия в растении (или геномной ДНК, клетке или ткани растения) того же генетического элемента, локуса, фрагмента интрогрессии, гена или аллеля, которые можно получить из депонированных семян, определяет специалист в данной области техники, используя один или несколько способов, известных в данной области техники, таких как фенотипический анализ, полногеномное секвенирование, анализ молекулярных маркеров, картирование признаков, окраска хромосом, тесты на аллелизм и т.п., либо сочетания указанных методов.

«Маркер ОНП» по тексту настоящей заявки обозначает однонуклеотидный полиморфизм геномной последовательности, связанной с ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 или ЛКП3.1, при этом специфический нуклеотид, который также именуется донорским нуклеотидом ОНП (например, для ОНП_01 тиамин на нуклеотиде 51 SEQ ID NO:1 или тиамин на нуклеотиде 51 последовательности, которая, по меньшей мере, на 95%, 96%, 97%, 98%, 99% идентична последовательности SEQ ID NO: 1), или последовательности, содержащей конкретный нуклеотид, связанный с ЛКП. Такой нуклеотид или последовательность, содержащая нуклеотид, также именуется «генотипом ОНП» или «нуклеотидом ОНП» растения или части растения, а ОНП_01 может быть «Т» (гаплоидный, на одной хромосоме) или «ТТ» (диплоидный, на обеих хромосомах). Маркеры ОНП_01 - ОНП_16 связаны с ЛКП1.1 и присутствуют на фрагменте интрогрессии, который включает в себя ЛКП1.1. Маркеры ОНП_17 - ОНП_31 связаны с ЛКП1.2, а маркеры ОНП_17 - ОНП_31 присутствуют на фрагменте интрогрессии, который включает в себя ЛКП1.2. Маркеры ОНП_32 - ОНП_47 связаны с ЛКП2.1, а маркеры ОНП_32 - ОНП_47 присутствуют на фрагменте интрогрессии, который включает в себя ЛКП2.1. Маркеры ОНП_48 - ОНП_62 связаны с ЛКП3.1, а маркеры ОНП_48 - ОНП_62 присутствуют на фрагменте интрогрессии, который включает в себя ЛКП3.1.

«Гаплотип» или «гаплоидный генотип» относится к гаплоидному генотипу нескольких генетических локусов в растении, особенно нескольких маркеров ОНП или нескольких последовательностей, содержащих маркеры ОНП. Таким образом, для ЛКП1.1 гаплотип ОНП может представлять собой гаплоидный генотип, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или более (например, всех 16) маркеров ОНП ОНП_01 - ОНП_16 (или последовательностей, содержащих ОНП-маркеры). Например, растение, содержащее ЛКП1.1, может содержать «Т» для ОНП_01 на нуклеотиде 51 в SEQ ID NO: 1 (или на нуклеотиде 51 последовательности, которая, по меньшей мере, на 95%, 96%, 97%, 98% или на 99% идентична SEQ ID NO: 1), «Т» для ОНП_02 на нуклеотиде 51 в SEQ ID NO: 2 (или на нуклеотиде 51 последовательности, которая, по меньшей мере, на 95%, 96%, 97%, 98% или на 99% идентична SEQ ID NO: 2), 'Т' для ОНП_03 в SEQ ID NO: 3, таким образом, оно имеет гаплотип ОНП Т-Т-Т для ОНП_01 - ОНП_03, который представляет собой гаплотип ОНП ОНП_01 - ОНП_03 донора дикого огурца (также именуемого донорский гаплотип ОНП). Диплоидное растение, гомозиготное по ОНП, будет иметь генотип ОНП ТТ-ТТ-ТТ для ОНП_01 - ОНП_03.

«Вариант» или «ортологичная» последовательность или «вариант ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 или ЛКП3.1» или «вариант ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 или ЛКП3.1» обозначает резистентность к ToLCNDV-ES, придаваемую ЛКП (ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 или ЛКП3.1), или к фрагменту интрогрессии, содержащему ЛКП, который получен из дикого или примитивного растения-донора огурца, отличного от ЛКП1.1., ЛКП1.2, ЛКП2.1 или ЛКП3.1, присутствующего в NCIMB43745. Указанный вариант ЛКП может, например, быть идентифицированы как имеющий тот же гаплотип ОНП, что и ЛКП, присутствующий в NCIMB43745 для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 маркеров (предпочтительно последовательных маркеров), выбранных из ОНП_01 - ОНП_16 для варианта ЛКП1.1, выбранный из ОНП_17 - ОНП_31 для варианта ЛКП1.2, выбранный из ОНП_32 - ОНП_47 для варианта ЛКП2.1 и выбранный из ОНП_48 - ОНП_62 для варианта ЛКП3.1. Так, например, растение, содержащее вариант ЛКП1.1, может содержать гаплотип ОНП Т-Т-Т-Т-А для ОНП_01 - ОНП_05, т.е. 'Т' для ОНП_01 на нуклеотиде 51 в SEQ ID NO: 1 (или на нуклеотиде 51 последовательности, которая, по меньшей мере, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 1), 'Т' для ОНП_02 на нуклеотиде 51 в SEQ ID NO: 2 (или на

нуклеотиде 51 последовательности, которая, по меньшей мере, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 2), 'T' для ОНП_03 на нуклеотиде 51 в SEQ ID NO: 3 (или на нуклеотиде 51 последовательности, которая, по меньшей мере, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 3), 'T' для ОНП_04 на нуклеотиде 51 в SEQ ID NO: 4 (или на нуклеотиде 51 последовательности, которая, по меньшей мере, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 4), и «А» для ОНП_05 на нуклеотиде 51 в SEQ ID NO: 5 (или на нуклеотиде 51 последовательности, которая, по меньшей мере, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 5) (или на нуклеотиде 51 последовательности, которая, по меньшей мере, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 4), и «А» для ОНП_05 на нуклеотиде 51 в SEQ ID NO: 5 (или на нуклеотиде 51 последовательности, которая, по меньшей мере, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 5). Кроме того, вариант ЛКП обеспечивает (по меньшей мере, в гомозиготной форме) пониженную восприимчивость/повышенную резистентность к заражению вирусом ToLCNDV-ES, как описано по тексту настоящей заявки.

«Резистентный» или «являющийся резистентным к» в контексте настоящего изобретения обозначает растение, которое является видом-хозяином конкретного патогена и, следовательно, может быть инфицировано данным патогеном, при этом растение содержит один или более генетических элементов (например, один или более фрагментов интрогрессии), что приводит к снижению роста и/или распространению патогена в растении после заражения по сравнению с восприимчивым растением, у которого генетические элементы отсутствуют. В контексте настоящего изобретения «резистентный» или «являющийся резистентным к», в частности, относится к растительным клеткам или растениям, резистентным к ToLCNDV-ES. Резистентность – это относительный термин, который может охватывать ряд (различных) реакций в растительной клетке или растении, вызванных инфекцией патогена. Влияние таких реакций на растительную клетку или растение можно измерить различными способами. Обычно влияние измеряется путем определения уровня симптомов, проявляющихся в части растения или растении. Обычно средне выраженные симптомы (средний индекс заболеваемости) нескольких растений линии (например, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более) сравнивают со средними симптомами (средний индекс

заболеваемости) нескольких растений контрольной линии или сорта, предпочтительно растений восприимчивой контрольной линии или сорта. Таким образом, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более отдельных растений линии или сорта оцениваются в один или более моментов времени (например, 25, 32 и 46 дни после заражения/инокуляции) и производится расчет среднего индекса активности заболевания. Что касается настоящего изобретения, применяются следующие уровни симптомов (или индекс заболеваемости) в соответствии с фенотипическими наблюдениями, проведенными после инфицирования ToLCNDV-ES:

Индекс 2,0: листья огурца полностью покрыты мозаикой пожелтения (порядка 90 - 100% площади листьев).

Индекс 3,0: листья огурца в значительной степени покрыты мозаикой пожелтения (порядка 70 - 80% площади листьев).

Индекс 4,0: листья огурца с четко выраженной мозаикой пожелтения (порядка 40 - 60% площади листьев).

Индекс 5,0: листья огурца с мозаикой пожелтения (порядка 30 - 40% площади листьев), которая равномерно распределена в межжилковых пространствах

Индекс 6,0: листья огурца с мозаикой пожелтения (порядка 20 - 30% площади листьев), которая равномерно распределена в межжилковых пространствах

Индекс 7,0: листья огурца покрыты умеренно выраженной мозаикой пожелтения (порядка 10% площади листьев).

Индекс 8,0: листья огурца с весьма незначительной мозаикой пожелтения (изгиб жилок).

Индекс 9,0: здоровые листья без симптомов.

Для определения уровня симптомов (или индекса активности заболевания) предпочтительно выполнять заражение вирусом ToLCNDV-ES молодых растений. Молодые растения предпочтительно представляют собой растения в возрасте распускающегося первого настоящего листа, предпочтительно приблизительно от 10 до 14 суток после посева. Заражение предпочтительно осуществляют посредством питания переносчика вируса (*белокрылка*). Для этого растения проращивают и

выращивают в оптимальных или близких к оптимальным условиям. Уровень симптомов предпочтительно определяют, по меньшей мере, один раз, например, 25 дней после заражения (дпи) (или, например, 21, 22, 23 или 24 дпи). При необходимости уровень выраженности симптомов определяют дважды или даже трижды в разные моменты времени после заражения для подтверждения результата, например, первая оценка примерно через 25 дней после заражения (или, например, 21, 22, 23 или 24 дпи) и вторая оценка проводится примерно через 32 дня после заражения (или 33, 34, 35 или 36 дпи) и, при необходимости, третья оценка выполняется примерно через 46 дней после заражения (или, например, 47, 48, 49 дпи) вирусом ToLCNDV-ES. Также см. примеры. Средний индекс заболеваемости рассчитывается для каждой линии или сорта в каждый момент времени. В одном аспекте линия или сорт растения считается «резистентным» к заражению вирусом ToLCNDV-ES, если она/он имеет средний индекс заболеваемости (по меньшей мере, по состоянию на один, но предпочтительно на два или даже три момента времени после инокуляции), не менее 7,5, в то время как восприимчивая контрольная линия или сорт имеет прогнозируемый средний индекс заболеваемости, например, сорт Ренуар имеет средний индекс заболеваемости порядка 3,0 или менее при выращивании в тех же условиях и заражении одним и тем же способом. Предпочтительно включать несколько восприимчивых контрольных сортов, у которых должны проявиться ожидаемые симптомы, это позволит убедиться, что заражение произошло. В другом аспекте линия или сорт растения считается «высоко резистентными» к заражению вирусом ToLCNDV-ES, если она (он) имеет средний индекс заболеваемости (по меньшей мере, по состоянию на один, но предпочтительно по состоянию на два или даже три момента времени после инокуляции) 8,0 или выше, предпочтительно, если она (он) имеет средний индекс заболеваемости, по меньшей мере, 8,4 или 8,5, более предпочтительно, по меньшей мере, 9,0, в то время как восприимчивая контрольная линия или сорт демонстрирует ожидаемый средний индекс заболеваемости, например, сорт Ренуар имеет средний индекс заболеваемости порядка 3,0 или менее, при выращивании в тех же условиях и одинаковом способе заражения.

«Повышенная (или улучшенная) резистентность к заражению вирусом ToLCNDV-ES» или «значительно повышенная (или улучшенная) резистентность к

заражению вирусом ToLCNDV-ES» или «пониженная восприимчивость к заражению вирусом ToLCNDV-ES» обозначает растение, линию растений, гибрид или сорт посевного огурца, содержащий(-ую) ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 (или вариант любого из них), имеющая (ввиду наличия одного или более ЛКП, особенно в гомозиготной форме), для которой(-го) характерен более высокий средний индекс заболеваемости (по шкале от 2,0 до 9,0, как описано выше) по состоянию на один или более моментов измерения после заражения (например, при 25 дпи) по сравнению с контрольным растением, не имеющим ЛКП, предпочтительно генетическим контрольным растением или рекуррентным родителем. Предпочтительно средний индекс заболеваемости линии или сорта увеличивается, по меньшей мере, на 1,0 балла, 1,5 балла, 2,0 балла, 2,5 балла, 3,0 балла, 3,5 балла, 4,0 балла или более по шкале от 2,0 до 9,0. Например, если рекуррентная родительская линия растений, в которой отсутствует ЛКП, имеет средний индекс заболеваемости 5,0, введение одного или более ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 в эту линию, особенно в гомозиготной форме увеличивает средний индекс заболеваемости линии, по меньшей мере, до 6,0, предпочтительно, по меньшей мере, до 6,5, 7,0, 7,5, 8,0, 8,5 или 9,0.

«Контрольное растение» – генотип, селекционная линия, гибрид или сорт посевного огурца, у которого отсутствует фрагмент интрогрессии. Контрольное растение предпочтительно относится к тому же типу, что и растение, содержащее фрагмент(-ы) интрогрессии, например, длинный огурец, засолочный огурец, короткий огурец, салатный огурец и т.д. Например, подходящим контрольным растением является исходная (например, восприимчивая) родительская линия, в которую были интрогрессированы ЛКП (также именуемая рекуррентным родителем). Другими контрольными растениями являются, например, известные восприимчивые сорта, такие как Ренуар F1 (сорт Nunhems, салатный огурец), Мاستил F1 (сорт Nunhems, длинный огурец), Скуизито F1 (сорт Nunhems, длинный огурец) и Тарей F1 (сорт Nunhems, длинный огурец). В качестве контрольного растения также могут использоваться семена, депонированные под номером NCIMB 43744.

«Генетический контрольный образец» – это генотип, селекционная линия, сорт или гибрид культивируемого огурца, который имеет тот же или очень похожий культивируемый геном, что и растение огурца, содержащий один или более

фрагментов интрогрессии, за исключением отсутствия интрогрессии, т.е. хромосомы 1, 2 и 3 «дикого типа», т.е. геном посевного огурца. Сюда, например, относится линия обратного скрещивания в программе обратного скрещивания, которая не содержит фрагмент интрогрессии. Например, семена, депонированные под номером NCIMB 43744, подходят в качестве генетического контрольного образца.

Термин «маркерный анализ» относится к молекулярному анализу маркеров, который можно использовать для проверки наличия на хромосоме 1, 2 и/или 3 посевного огурца *C. sativus* сорт *sativus* интрогрессии от дикого или примитивного огурца, и включает ли в себя данный фрагмент интрогрессии ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 (или их варианты), которые придают резистентность к вирусу ToLCNDV-ES, путем определения генотипа или гаплотипа любого одного или более маркеров, связанных с ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1, например, генотип или гаплотип одного или более SNP маркеров, выбранных из ОНП_01 - ОНП_16 для ЛКП1.1, или генотип или гаплотип одного или более SNP маркеров, выбранных из ОНП_17 - ОНП_31 для ЛКП1.2, или генотип или гаплотип одного или более SNP маркеров, выбранных из ОНП_32 - ОНП_47 для ЛКП2.1, или генотип или гаплотип одного или более SNP маркеров, выбранных из ОНП_48 - ОНП_62 для ЛКП3.1 (см. также Фигуру 1).

«Фланкирующие маркеры» – это маркеры, находящиеся по обе стороны от ЛКП, т.е. ЛКП, которые расположены в хромосомной области между фланкирующими маркерами, например, ЛКП1.1 (или вариант ЛКП1.1) находится в одном аспекте в промежуточном положении ОНП_01 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 1 и ОНП_16 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 16, ЛКП1.2 (или вариант ЛКП1.2) находится в одном аспекте в промежуточном положении ОНП_17 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 17 и ОНП_31 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 31, ЛКП2.1 (или вариант ЛКП2.1) находится в одном аспекте в промежуточном положении ОНП_32 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 32 и ОНП_47 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 47, ЛКП3.1 (или вариант ЛКП3.1) находится в одном аспекте в промежуточном положении ОНП_48 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 48 и ОНП_62 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 62.

ОНП-маркеры, предусмотренные настоящей заявкой, расположены в заданном порядке на фрагменте интрогрессии (см. Фиг. 1). «Последовательные» маркеры обозначают маркеры, которые расположены в одном и том же последовательном порядке, т.е. два последовательных маркера могут, например, быть ОНП_01 и ОНП_02; ОНП_02 и ОНП_03; ОНП_03 и ОНП_04, и т.д., а три последовательных маркера могут быть ОНП_01 и ОНП_02 и ОНП_03; ОНП_02 и ОНП_03 и ОНП_04; и т.д.

«Средний» или «среднее» по тексту настоящей заявки обозначает среднее арифметическое, при этом оба термина являются взаимозаменяемыми. Таким образом, термин «среднее» относится к среднему арифметическому нескольких измерений. Специалистам в данной области известно, что фенотип линии или сорта растений в некоторой степени зависит от условий выращивания и, следовательно, средние арифметические значения, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50 или более растений (или частей растений) измеряют, предпочтительно в произвольно сформированных экспериментальных компоновках с несколькими отдельно воссозданными экземплярами и соответствующими контрольными растениями, выращенными в тех же условиях в рамках одного и того же эксперимента. «Статистически значимое» или «статистически существенное» отличие или «значительное» отличие относится к характеристике линии или сорта растений, которая по сравнению с соответствующим контрольным растением демонстрирует статистически значимое различие по данной характеристике (например, значение p меньше, чем 0,05, $p < 0,05$, с использованием дисперсионного анализа) из (среднего значения) для контрольного растения.

«Рекомбинантная хромосома» обозначает хромосому, имеющую новый генетический состав, возникающий в результате кроссинговера между гомологичными хромосомами, например «рекомбинантная хромосома 1», т.е. хромосома 1, которая не присутствует ни в одном из родительских растений и возникла в результате редкого двойного кроссинговера между гомологичными хромосомами пары хромосом 1. По тексту настоящей заявки, например, представлена рекомбинантная хромосома 1 огурца, содержащая фрагмент интрогрессии от дикого или примитивного донора огурца. То же самое относится и к хромосоме 2 или 3.

Термин «традиционные методы селекции» по тексту настоящей заявки включает в себя скрещивание, обратное скрещивание, самоопыление, селекцию, получение двойных гаплоидов, эмбриональное спасение, слияние протопластов, селекцию с помощью маркеров, мутационную селекцию и т.д., известные специалистам в области селекции (т.е. методы, отличные от методов генетической модификации/трансформации/трансгенных методов), с помощью которых, например, можно получить, идентифицировать и/или перенести рекомбинантную хромосому 1, 2 или 3.

«Обратное скрещивание» обозначает метод разведения, с помощью которого (одионый) признак, такой как ЛКП, придающий резистентность к вирусу ToLCNDV-ES, может быть передан из (как правило, худшего) генетического фона (например, дикого или примитивного огурца; также именуемого «донором») в (как правило, лучший) генетический фон (также именуемый «рекуррентный родитель»), например посевной огурец. Потомство скрещивания (например, растение F1, полученное путем скрещивания дикого или примитивного огурца с посевным огурцом; или растение F2 или растение F3, и т.д., полученное в результате самоопыления F1) «обратно скрещивается» с родителем с лучшим генетическим фоном, например, посевным родителем. После повторного обратного скрещивания признак (как правило, низший) генетический фон включается в (обычно лучший) генетический фон.

«Маркерная селекция» или «MAS» представляет собой процесс использования наличия молекулярных маркеров, которые генетически связаны с определенным локусом или с определенной областью хромосомы (например, фрагментом интрогрессии), для селекции растений с наличием определенного локуса или области (фрагмента интрогрессии). Например, молекулярный маркер, физически связанный с ЛКП, придающим резистентность к ToLCNDV-ES, может быть использован для обнаружения и/или селекции растений огурца, содержащих ЛКП, которые придают резистентность к ToLCNDV-ES, на хромосомах 1, 2 и/или 3. Чем теснее связь между молекулярным маркером с локусом, тем менее вероятно, что маркер диссоциируется от локуса посредством мейотической рекомбинации. Аналогично, чем ближе два маркера связаны друг с другом, тем менее вероятно, что эти два маркера будут

отделены друг от друга (и тем более вероятно, что они будут разделяться как единое целое).

Маркер «в пределах 7 см или в пределах 5 см, 3 см, 2 см или 1 см» от другого маркера относится к маркеру, который генетически картируется в пределах области 7 см или 5 см, 3 см, 2 см или 1 см фланкирующего маркера (т.е. с любой стороны маркера). Аналогично, маркер в пределах 5 Мб, 3 Мб, 2.5 Мб, 2 Мб, 1 Мб, 0,5 Мб, 0,4Мб, 0,3Мб, 0,2Мб, 0,1 Мб, 50кб, 20кб, 10кб, 5кб, 2кб, 1кб или менее другого маркера относится к маркеру, который физически расположен в пределах 5 Мб, 3 Мб, 2.5 Мб, 2 Мб, 1 Мб, 0,5 Мб, 0,4Мб, 0,3Мб, 0,2Мб, 0,1 Мб, 50кб, 20кб, 10кб, 5кб, 2кб, 1кб или менее, участка геномной ДНК, фланкирующего маркер (т.е. с любой стороны маркера).

«Показатель сцепления генов» (логарифм соотношения шансов (по основанию 10)) обозначает статистический тест, часто используемый для анализа сцепления генов в популяциях животных и растений. Показатель сцепления генов позволяет сравнить сравнивает вероятность получения тестовых данных, если два локуса (локус молекулярного маркера и/или локус фенотипического признака) действительно связаны, с вероятностью наблюдения таких же данных чисто случайно. Положительные значения показателя сцепления генов свидетельствуют о наличии связи, а показатель сцепления генов более 3,0 считается свидетельством сцепления. Показатель сцепления генов +3 указывает на вероятность 1000 к 1, что наблюдаемая связь возникла неслучайно.

Термины «вегетативное размножение», «вегетативное размножение» или «клональное размножение» используются по тексту настоящей заявки взаимозаменяемо и означают способ взятия части растения и предоставления этой части растения возможности образовать, по меньшей мере, корни, где часть растения, например, определяется как или получена из (например, путем срезания) листа, пыльцы, зародыша, семядоли, гипокотили, клеток, протопластов, меристематической клетки, корня, кончика корня, пестика, пыльника, цветка, кончика побега, побега, стебля, плода, черешка и т.д. В случаях, когда целое растение регенерируется путем вегетативного размножения, это также называется вегетативным размножением. В

одном аспекте настоящей заявкой предусмотрено размножение прививкой, например, привой на подвое.

«Клеточная культура» или «культура ткани» обозначает культуру клеток или тканей растения *in vitro*.

«Регенерация» обозначает получение растения из культуры клеток или культуры ткани или вегетативное размножение.

«Неразмножающаяся клетка» обозначает клетку, которая не может быть регенерирована в целое растение.

«Трансген» или «химерный ген» обозначает генетический локус, содержащий последовательность ДНК, например рекомбинантный ген, который был введен в геном растения путем трансформации, такой как трансформация с использованием *агробактерий*. Растение, содержащее трансген, стабильно интегрированный в его геном, называется «трансгенным растением».

«Изолированная нуклеотидная последовательность» обозначает нуклеотидную последовательность, которая больше не находится в естественной среде, из которой она была выделена, например, нуклеотидную последовательность в бактериальной клетке-хозяине или в растительном ядерном или пластидном геноме. Под «последовательностью» по тексту настоящей заявки понимается молекула, содержащая такую последовательность, например, молекула нуклеиновой кислоты.

«Клетка-хозяин», «рекомбинантная клетка-хозяин» или «трансформированная клетка» – это термины, обозначающие новую отдельную клетку (или организм), полученную(-ный) в результате введения, по меньшей мере, одной молекулы нуклеиновой кислоты в указанную клетку. Клетка-хозяин представляет собой предпочтительно растительную или бактериальную клетку. Клетка-хозяин может содержать нуклеиновую кислоту в виде внехромосомно (эпизомальной) реплицирующейся молекулы или нуклеиновую кислоту, включенную в ядерный или пластидный геном клетки-хозяина, или в виде введенной хромосомы, например, минихромосомы.

«Идентичность последовательностей» и «сходство последовательностей» определяется путем выравнивания двух пептидных или двух нуклеотидных последовательностей с использованием алгоритмов глобального или локального выравнивания. Последовательности могут именоваться «существенно идентичными» или «существенно подобными», когда они оптимально выровнены, например, с помощью программ GAP или BESTFIT или программы Emboss «Needle» (с использованием параметров по умолчанию, см. ниже), имеют общий, по меньшей мере, определенный минимальный процент идентичности последовательности (см. определение ниже). В указанных программах используется алгоритм глобального выравнивания Нидлмана-Вунша, который позволяет выполнять выравнивание двух последовательностей по всей длине, что делает количество совпадений максимальным, а количество пробелов – минимальным. Обычно используются параметры по умолчанию, со штрафным баллом за внесение делеции = 10 и штрафным баллом за продолжение делеции = 0,5 (как для выравнивания нуклеотидных, так и белковых последовательностей). При подсчете нуклеотидов по умолчанию используется матрица замен DNAFULL, а при подсчете белков – Blosum62 (Henikoff & Henikoff, 1992, PNAS 89, 10915-10919). Выравнивание последовательностей и процентную идентичность последовательностей определяют, например, с помощью компьютерных программ, таких как EMBOSS, доступных в сети Интернет по адресу ebi.ac.uk/Tools/psa/emboss_needle/). В некоторых случаях, сходство или идентичность последовательностей определяют путем поиска в таких базах данных, как FASTA, BLAST и т.д., при этом совпадения находят и выравнивают попарно, поскольку это позволяет сравнить идентичности последовательностей. Два белка или два белковых домена, или две последовательности нуклеиновой кислоты характеризуются «существенной идентичностью последовательностей», если процент идентичности последовательностей составляет, по меньшей мере, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% или более (например, по результатам применения метода Emboss Needle с использованием параметров по умолчанию, т.е. штрафной балл за внесение делеции = 10, штрафной балл за продолжение делеции = 0,5, с использованием оценочной матрицы DNAFULL для нуклеиновых кислот и Blosum62 для белков). Для маркерных последовательностей, содержащих нуклеотид ОНП в областях фланкирующей

последовательности в промежуточном положении, «вариантная последовательность» (или «последовательность, обладающая значительной идентичностью последовательности») представляет собой, например, последовательность, содержащую тот же нуклеотид ОНП в эквивалентном положении в последовательности, которая, по меньшей мере, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична другой последовательности. Процент идентичности измеряется по последовательностям одинаковой длины, например две последовательности длиной 101 нуклеотид с ОНП на нуклеотиде 51. Это можно сделать, например, путем попарного выравнивания, используя, например, Needle или BLAST-анализ последовательности, например, в случае с геномной последовательностью или последовательностью хромосом. Например, «нуклеотид ОНП на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 1 или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности / или на эквивалентном нуклеотиде в альтернативной последовательности» обозначает нуклеотид ОНП в том же положении (например, нуклеотид 51), при этом фланкирующие нуклеотиды справа и слева от ОНП не могут быть на 100% идентичными фланкирующим нуклеотидам слева и справа от нуклеотида 51 в SEQ ID NO: 1. Таким образом, обе последовательности одинаковой длины при выравнивании могут быть идентичны на 95%, 96%, 97%, 98% или 99%. В другом варианте осуществления нуклеотидная последовательность считается существенно идентичной данной нуклеотидной последовательности, если ее можно идентифицировать с использованием жестких условий гибридизации.

«Жесткие условия гибридизации» можно использовать для идентификации нуклеотидных последовательностей, которые по существу идентичны данной нуклеотидной последовательности. Жесткие условия зависят от конкретной последовательности и различаются в разных обстоятельствах. Обычно жесткие условия подбирают таким образом, чтобы они были примерно на 5°C ниже температуры плавления (T_m) для конкретных последовательностей при определенной ионной силе и pH. T_m представляет собой температуру (при определенных ионной силе и pH), при которой 50% целевой последовательности гибридизуется с абсолютно совпадающим зондом. Обычно выбирают жесткие условия, при которых концентрация соли составляет около 0,02 моль при pH 7 и температуре, по меньшей

мере, 60°C. Снижение концентрации соли и/или повышение температуры увеличивает жесткость условий. Жесткие условия гибридизации РНК-ДНК (нозерн-блоттинг с использованием зонда размером, например, 100 нуклеотидов) включают в себя, например, такие условия, которые предусматривают, по меньшей мере, одну промывку в 0,2X SSC при 63°C в течение 20 минут или аналогичные условия. Жесткими условиями гибридизации ДНК-ДНК (саузерн-блоттинг с использованием зонда, например, 100 нуклеотидов) являются, например, те, что включают в себя, по меньшей мере, одну промывку (обычно 2) в 0,2X SSC при температуре, по меньшей мере, 50°C, обычно около 55°C, в течение 20 мин или аналогичные условия.

«Точное картирование» относится к методам, с помощью которых положение ЛКП может быть определено более точно (сужено) и с помощью которых уменьшается размер фрагмента интрогрессии, содержащего ЛКП. Например, могут быть сформированы почти изогенные линии для ЛКП (ЛКП-ПИЛ), которые включают в себя разные, перекрывающиеся фрагменты интрогрессии внутри в остальном однородного генетического фона рекуррентного родителя. Такие линии можно использовать для картирования того, на каком фрагменте расположен ЛКП, а также для идентификации линии, имеющей более короткий фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКП.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к культивируемому растению *Cucumis sativus* сорт *sativus*, содержащему один или более ЛКП, придающих резистентность к ToLCNDV-ES, выбранных из ЛКП1.1 (на хромосоме 1), ЛКП1.2 (на хромосоме 1), ЛКП2.1 (на хромосоме 2) и ЛКП3.1 (на хромосоме 3), интрогрессированных из дикого или примитивного огурца. Таким образом, повышенная резистентность к ToLCNDV-ES обеспечивается фрагментом интрогрессии на хромосоме 1, 2 или 3 посевного огурца (содержащим ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 или вариант любого из них), причем указанный фрагмент интрогрессии получен из дикого или примитивного огурца, именуемого «донорским» ЛКП.

В случаях, когда по тексту настоящей заявки указан фрагмент интрогрессии на хромосоме 1, 2 или 3, обладающий резистентностью к ToLCNDV-ES, которую придает

ЛКП, указанное понятие включает в себя различные размеры фрагментов интрогрессии, например, фрагмент, обнаруженный в NCIMB 43745, содержащий донорский нуклеотид ОНП или все маркеры ОНП, связанные с ЛКП (для ЛКП1.1: ОНП_01 - ОНП_16, или любой маркер в промежуточном положении между ними; для ЛКП1.2: ОНП_17 - ОНП_31 или любой маркер в промежуточном положении между ними; для ЛКП2.1: ОНП_32 - ОНП_47 или любой маркер в промежуточном положении между ними; для ЛКП3.1: ОНП_48 - ОНП_62 или любой маркер в промежуточном положении между ними), а также меньшие фрагменты интрогрессии (содержащие меньше, чем эти 15 или 16 маркеров ОНП, таких как, например, только 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 ОНП-маркеров), где, при этом, фрагмент остается достаточно большим, чтобы придавать существенно повышенную резистентность к ToLCNDV-ES (по сравнению с контрольным или генетическим контрольным растением), когда фрагмент интрогрессии находится в гетерозиготной или предпочтительно в гомозиготной форме в геноме посевного огурца. Другими словами, фрагмент сохраняет ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 или ЛКП3.1 или вариант любого из них, т.е. он по-прежнему придает существенно повышенную резистентность к ToLCNDV-ES (по сравнению с контрольным или генетическим контрольным растением), когда фрагмент интрогрессии находится в гетерозиготной или предпочтительно в гомозиготной форме в геноме посевного огурца.

Кроме того, когда по тексту настоящей заявки указывается фрагмент на хромосоме интрогрессии 1, 2 или 3, обладающий резистентностью к ToLCNDV-ES, которую придает ЛКП, он также включает в себя фрагменты интрогрессии от различных доноров, которые содержат одинаковые или варианты ЛКП, присутствующие, например, в NCIMB 43745 (как указано, например, в Таблицах 1-4). Такие варианты ЛКП имеют один и тот же гаплотип ОНП или генотип ОНП для, в меньшей степени, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более описанных маркеров ОНП, например в Таблице 1 для ЛКП1.1, в Таблице 2 для ЛКП1.2, в Таблице 3 для ЛКП2.1 и в Таблице 4 для ЛКП3.1. Например, доноры PI605996, PI197087 (оба доступны в собрании ARS-GRIN в США (см. сайт в сети Интернет npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/search) или CGN22263 или CGN22932 (оба доступны в Центре генетических ресурсов, университет Вагенингена, [//cgngenis.wur.nl/](http://cgngenis.wur.nl/)), или другие образцы, которые содержат

один и тот же гаплотип или генотип ОНП для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или более ОНП могут быть использованы маркеры одного или более ЛКП, как указано в Таблицах 1 – 4. Предпочтительно донор, который содержит тот же гаплотип или генотип ОНП для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или более маркеров ОНП одного или более ЛКП, как указано в Таблицах 1 – 4, кроме того, они также имеют средний индекс заболеваемости ToLCNDV-ES, по меньшей мере, 7,5, 8,0, 8,5 или предпочтительно 9,0.

По тексту настоящей заявки аспекты для ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1 (или вариантов любого из них) описаны индивидуально, при этом принято, что сюда включены не только растения и части растений, содержащие отдельные ЛКП, но и растения и части растений, содержащие различные комбинации ЛКП. Предпочтительными комбинациями являются растения и части растений, содержащие один или более основных ЛКП, выбранных из ЛКП1.1, ЛКП1.2 и ЛКП2.1 (или вариантов любого из них), растения и части растений, содержащие два или три аддитивных ЛКП, выбранных из ЛКП1.1, ЛКП1.2 и ЛКП3.1 (или варианты любого из них), растения и части растений, содержащие ЛКП1.1 и ЛКП1.2 (или варианты любого из них), растения и части растений, содержащие ЛКП1.1 и/или ЛКП1.2 и ЛКП3.1 (или варианты любого из них), растения и части растений, содержащие ЛКП1.1 и/или ЛКП1.2 и ЛКП2.1 (или варианты любого из них), а также растения и части растений, содержащие все четыре ЛКП. Поскольку три аддитивных ЛКП также повышают резистентность к ToLCNDV-ES, когда они представлены в гетерозиготной форме, один или более из таких ЛКП могут присутствовать в гомозиготной или гетерозиготной форме. Например, растение может содержать ЛКП1.1 и/или ЛКП1.2 и/или ЛКП3.1 (или варианты любого из них) в гетерозиготной форме. Либо растение может содержать ЛКП1.1 и/или ЛКП1.2 и/или ЛКП3.1 (или варианты любого из них) в гомозиготной форме. ЛКП2.1, который является рецессивным или частично рецессивным, в зависимости от фона, предпочтительно присутствует в растении в гомозиготной форме. Разумеется, для измерения влияния ЛКП2.1 (или его варианта) на резистентность к ToLCNDV-ES ЛКП должен быть в гомозиготной форме.

В одном аспекте предусмотрено посевное растение *Cucumis sativus* сорт *sativus*, содержащее, по меньшей мере, один или два фрагмента интрогрессии хромосом 1, 2

и/или 3 от донора дикого огурца, отличающегося тем, что, по меньшей мере, один указанный фрагмент содержит ЛКП1.1, а другой фрагмент содержит ЛКП, выбранный из ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1. Таким образом, в одном аспекте ЛКП1.1 присутствует в растении (или части растения или семени), предпочтительно в гомозиготной форме и в некоторых случаях в комбинации с любым одним или несколькими другими ЛКП, выбранными из ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1. Один или более других ЛКП предпочтительно также представлены в гомозиготной форме.

В другом аспекте, предусмотрено посевное растение *Cucumis sativus* сорт *sativus*, содержащее, по меньшей мере, три фрагмента интрогрессии хромосом 1, 2 и/или 3 от донора дикого огурца, где каждый из указанных фрагментов интрогрессии содержит locus количественного признака (ЛКП), выбранный из ЛКП, обозначенных ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1. Как было показано в примерах, три ЛКП (особенно в гомозиготной форме) обеспечивают очень высокие уровни резистентности, лишь немного ниже уровня всех четырех ЛКП.

В еще одном аспекте предусмотрено посевное растение *Cucumis sativus* сорт *sativus*, содержащее, по меньшей мере, один или два фрагмента интрогрессии хромосом 1, 2 и/или 3 от донора дикого огурца, где, по меньшей мере, один указанный фрагмент содержит ЛКП3.1, а другой фрагмент содержит ЛКП, выбранный из ЛКП1.1, ЛКП1.2 и ЛКП2.1. Таким образом, в одном аспекте ЛКП3.1 присутствует в растении (или части растения или семени), предпочтительно в гомозиготной форме и в некоторых случаях в комбинации с любым одним или несколькими другими ЛКП, выбранными из ЛКП1.1, ЛКП1.2, и ЛКП2.1. Один или более других ЛКП предпочтительно также представлены в гомозиготной форме.

ЛКП1.1 и варианты ЛКП1.1 на хромосоме 1

Таким образом, в одном аспекте предусмотрено растение посевного огурца, содержащее фрагмент интрогрессии из дикого или примитивного огурца, причем фрагмент интрогрессии содержит ЛКП1.1 или его вариант, и при этом фрагмент интрогрессии содержит всю или часть области, начинающейся на нуклеотиде (или основании) 8235142 хромосомы 1 (соответствует ОНП_01) и заканчивающейся на нуклеотиде (или основании) 16209127 хромосомы 1 (соответствует ОНП_16).

Другими словами, вся или часть области, начинающейся на нуклеотиде 8235142 хромосомы 1 (ОНП_01) и заканчивающейся на нуклеотиде 16209127 хромосомы 1 (ОНП_16), в одном аспекте происходит от дикого донорского огурца и содержит ЛКП1.1 или его вариант. Данный участок содержит ЛКП1.1, и его можно определить, например, с использованием метода точного картографирования. Так, например, если установлено, что ЛКП1.1 находится в промежуточном положении между ОНП_01 и ОНП_10, то растение по изобретению должно содержать только область интрогрессии, начинающуюся с нуклеотидов 8235142 хромосомы 1 (ОНП_01) и заканчивающуюся нуклеотидами 10780728 (ОНП_10) хромосомы 1.

В одном аспекте, ЛКП1.1 (или его вариант) расположен между маркером ОНП_01 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 1 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 1) и маркером ОНП_16 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 16 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 16). В другом аспекте, ЛКП1.1 (или его вариант) расположен между маркером ОНП_01 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 1 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 1) и маркером ОНП_05 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 05 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 5). В другом аспекте, ЛКП1.1 (или его вариант) расположен между маркером ОНП_05 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 5 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 5) и маркером ОНП_10 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 10 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 10). В другом аспекте, ЛКП1.1 (или его вариант) расположен между маркером ОНП_10 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 10 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 10) и маркером ОНП_16 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 16 (или нуклеотид 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 16). В другом аспекте, ЛКП1.1 (или его вариант) расположен между маркером ОНП_04 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 4 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 4) и маркером ОНП_12 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 12 (или нуклеотид 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 12).

В другом аспекте, фрагмент интрогрессии согласно изобретению (содержащий ЛКП1.1 или его вариант) представляет собой фрагмент, содержащий меньший

фрагмент (часть) участка, начинающегося на нуклеотиде (или основании) 8235142 хромосомы 1 и заканчивающегося на нуклеотиде (или основании) 16209127 хромосомы 1, например, имеющий размер, например, 8,5Mb, 8,0 Mb, 7,9 Mb, 7,0 Mb, 6,0 Mb, 5,0 Mb, 4,0 Mb, 3,0 Mb, 2,5 Mb, 2 Mb, 1Mb, 0,5Mb, 100кб, 50кб, 35кб, 30кб, 20кб, или менее и содержащий ЛКП или его вариант. В одном аспекте, часть составляет, по меньшей мере, 5кб, 10кб, 20кб в размере, или более.

В одном аспекте растение посевного огурца по настоящему изобретению содержит фрагмент интрогрессии от дикого или примитивного огурца, причем указанный интрогрессии фрагмент содержит ЛКП1.1 или его вариант, при этом фрагмент интрогрессии включает всю часть области, начиная с 8,2 Mb и заканчивая на 16,3 Mb физической хромосомы 1.

В одном аспекте фрагмент интрогрессии на хромосоме 1, содержащей ЛКП1.1, или его вариант, можно получить путем скрещивания растения, выращенного из NCIMB43745, с другим растением огурца, в частности, растением посевного огурца, в одном аспекте, длинного огурца, засолочного или салатного огурца.

В одном аспекте растение посевного огурца по настоящему изобретению, содержащее ЛКП1.1, или его вариант, представляет собой растение, отличающееся тем, что указанный фрагмент интрогрессии на хромосоме 1 можно получить путем скрещивания растения, выращенного из семян, депонированных под идентификационным номером NCIMB43745, с другим растением огурца. Таким образом, в одном аспекте ЛКП представляет собой ЛКП, присутствующий в семенах, депонированных под идентификационным номером NCIMB43745.

В другом аспекте, растение посевного огурца по настоящему изобретению, содержащее ЛКП1.1, или его вариант, представляет собой растение, отличающееся тем, что указанный фрагмент интрогрессии на хромосоме 1 можно получить путем скрещивания растения, содержащего тот же гаплотип ОНП или генотип ОНП для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более маркеров ОНП, связанных с ЛКП (т.е. ОНП_01 - ОНП_16 для ЛКП1.1 как показано в Таблице 1) с другим растением огурца, особенно с элитной селекционной линией посевного огурца. Таким образом, в одном аспекте ЛКП представляет собой вариант ЛКП, присутствующий в образцах диких доноров,

которые содержат один и тот же гаплотип или генотип ОНП для, в меньшей степени, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или более ОНП маркеров, которые, например, присутствуют в NCIMB43745. Предпочтительно донор также имеет фенотип резистентности, для которого характерен средний индекс заболеваемости ToLCNDV-ES, по меньшей мере, на уровне 7,5, предпочтительно, по меньшей мере, на уровне 8,0, 8,1, 8,2, 8,3, 8,4, 8,5, 8,6, 8,7, 8,8, 8,9 или 9,0.

При указании по тексту настоящей заявки маркеров ОНП, которые указывают на наличие фрагмента интрогрессии (и ЛКП, придающих резистентность к ToLCNDV-ES и присутствующих на фрагменте интрогрессии), имеется в виду генотип или гаплотип ОНП, который указывает на фрагмент интрогрессии, т.е. е. генотип или гаплотип ОНП, как указано, например, в Таблицах 1 – 4. Отмечено, что по генотипу ОНП-маркеров можно различать фрагменты интрогрессии, представленные в гомозиготной или гетерозиготной форме. В гомозиготной форме нуклеотид идентичен, а в гетерозиготной форме нуклеотид не идентичен. ОНП-генотип хромосомы «дикого типа» без фрагмента интрогрессии, представляет собой другой гаплотип, например, гаплотип рекуррентного родителя). Так, например, генотип ОНП_01, который указывает на наличие фрагмента интрогрессии, содержащего ЛКП1.1, представляет собой «TG» (ЛКП1.1/дт) или «ТТ» (ЛКП1.1/ЛКП1.1), тогда как генотип ОНП, который указывает на дикий тип/генетический контроль (где отсутствует фрагмент интрогрессии), это, например, 'GG' (dm/dm). Его также можно записать как генотип TX' ($ЛКП1.1/dm$) или «ТТ» ($ЛКП1.1/ЛКП1.1$), при этом генотип ОНП, указывающий на дикий тип/генетический контроль (отсутствие фрагмента интрогрессии), представлен, например, 'XX' (dm/dm). X может быть представлен любым нуклеотидом (А, Т, С или G). Таким образом, когда речь идет о растении или части растения (например, клетке), содержащей фрагмент интрогрессии в гомозиготной или гетерозиготной форме, подразумевается, что маркеры ОНП, связанные с фрагментом интрогрессии, имеют соответствующий генотип или гаплотип ОНП.

Соответственно, в одном аспекте предусмотрено посевное растение *Cucumis sativus* сорт *sativus*, содержащее фрагмент интрогрессии хромосомы 1 в гомозиготной или гетерозиготной форме, отличающийся тем, что указанный фрагмент интрогрессии

обеспечивает увеличение резистентности к ToLCNDV-ES по сравнению с растением огурца, лишенным фрагмента интрогрессии на хромосоме 1, например, генетический контрольный сорт или контрольный сорт при выращивании в аналогичных условиях.

Увеличение резистентности к ToLCNDV-ES фенотипически выражается как более высокий средний индекс заболеваемости (меньшее пожелтение, измеренное, например, при анализе заболеваний, как описано в настоящей заявке) линии или сорта растений посевного огурца, содержащих фрагмент интрогрессии на хромосоме 1 в гомозиготной или гетерозиготной форме по сравнению с генетической контрольной линией или сортом без фрагмента интрогрессии на хромосоме 1 при выращивании в аналогичной среде. Средний индекс заболеваемости предпочтительно возрастает, по меньшей мере, на 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0 или более баллов по шкале заболеваемости с 2,0 (для 90-100% площади листьев характерны симптомы мозаики пожелтения) до 9,0 (отсутствие симптомов). Так, например, если ЛКП1.1 вводится в восприимчивую линию или сорт огурца, имеющий средний индекс заболеваемости порядка 4,0, введение ЛКП1.1 предпочтительно приводит к повышению среднего индекса заболеваемости до, по меньшей мере, 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0 или выше. Ввиду того, что было установлено, что ЛКП1.1 является аддитивным, эффект ЛКП1.1 в гетерозиготной форме меньше, чем эффект в гомозиготной форме. Поэтому влияние на резистентность к ToLCNDV-ES предпочтительно измеряют, когда он представлен в гомозиготной форме.

Известно, что все четыре ЛКП вместе в гомозиготной форме (ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1) дают средний индекс заболеваемости на уровне 9,0 при введении в восприимчивое растение со средним индексом заболеваемости порядка 4,0 – 5,0. Влияние отдельных ЛКП, даже в гомозиготной форме, будет меньше, чем комбинированный эффект, но все равно будет проявляться в плане снижения симптомов ToLCNDV-ES. Эффект одного ЛКП1.1 можно определить путем введения одного ЛКП в восприимчивое растение огурца в гетерозиготной или предпочтительно в гомозиготной форме. Например, NCIMB43745 можно скрестить с восприимчивым растением, и в восприимчивый фон можно перенести лишь ЛКП1.1.

Таким образом, растения по изобретению содержат геном посевного огурца, по меньшей мере, с одной или двумя рекомбинантными хромосомами, а именно с одной или двумя рекомбинантными хромосомами 1 (т.е. гетерозиготной или гомозиготной). Рекомбинантные хромосомы содержат фрагмент дикого огурца-донора, который легко отличить от генома посевного огурца с помощью анализа молекулярных маркеров, полногеномного секвенирования, окраски хромосом и аналогичных методов.

В одном аспекте фрагмент интрогрессии хромосомы 1 от дикого или примитивного огурца, содержит ToLCNDV-ES ЛКП1.1, или его вариант, и включает всю или часть участка, начинающегося на нуклеотиде ОНП_01 и заканчивающегося на ОНП_16. Таким образом, фрагмент интрогрессии содержит ЛКП1.1 или его вариант и одну или более, или все (например, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15) маркеры ОНП дикого донора, выбранные из ОНП_01 – ОНП_16, как показано в Таблице 1.

В одном аспекте, фрагмент интрогрессии включает в себя ЛКП1.1 и одну или более, или все последовательности SEQ ID NO: 1 – 16.

В одном аспекте, присутствие фрагмента интрогрессии на хромосоме 1, содержащей ЛКП1.1 в геноме растения, или клетке растения, или ткани растения (или в извлеченной из него ДНК) обнаруживается с помощью анализа молекулярных маркеров, который выявляет один или более молекулярных маркеров фрагмента интрогрессии, особенно гаплотип или генотип ОНП донора для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более ОНП_01 - ОНП_16, на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 1 – 16 соответственно. Тем не менее, как уже указывалось, могут быть использованы и другие методы, например, генотип ОНП маркеров также может быть определен путем секвенирования или с использованием альтернативных маркеров, расположенных в промежуточном положении маркеров ОНП, предусмотренных настоящей заявкой, или в пределах 7 сМ, или в пределах 5 сМ от маркера, предусмотренного настоящей заявкой; или в пределах 5 Мб, 3 Мб, 2,5 Мб, 2 Мб, 1 Мб, 0,5 Мб, 0,4 Мб, 0,3 Мб, 0,2 Мб, 0,1 Мб, 50 КБ, 20 КБ, 10 КБ, 5 КБ, 2 КБ, 1 КБ или менее от маркера, предусмотренного настоящей заявкой.

В одном аспекте, присутствие фрагмента интрогрессии на хромосоме 1, содержащей ЛКП1.1 в геноме растения, или клетке растения, или ткани растения (или извлеченной из него ДНК) определяется путем обнаружения присутствия одной или нескольких или всех SEQ ID NO: 1 – 16.

Когда по тексту настоящей заявки делается ссылка на один или более молекулярных маркеров или последовательностей, которые «обнаруживаются», например, по результатам анализа молекулярных маркеров, это, естественно, означает, что растение или часть растения содержит один или несколько маркеров или последовательностей в своем геноме, поскольку в противном случае маркер или последовательность не обнаруживаются.

Растения огурца, содержащие фрагмент интрогрессии на хромосоме 1 (ЛКП1.1)

В одном аспекте культивируемое растение *Cucumis sativus* сорт *sativus*, содержащее фрагмент интрогрессии дикого или примитивного огурца на хромосоме 1 в гомозиготной или гетерозиготной форме, отличающееся тем, что указанный фрагмент интрогрессии включает в себя локус количественного признака (ЛКП), расположенный между маркером однонуклеотидного полиморфизма ОНП_01 и нуклеотидом 51 SEQ ID NO: 1 (или на нуклеотиде 51 варианта SEQ ID NO: 1) и маркере однонуклеотидного полиморфизма ОНП_16 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 16 (или на нуклеотиде 51 варианта SEQ ID NO: 1), при этом указанный ЛКП обеспечивает увеличение резистентности к ToLCNDV-ES. В одном аспекте, ЛКП расположен между основанием 8235142 (ОНП_01) и основанием 16209127 (ОНП_16) хромосомы 1.

Таким образом, в одном аспекте ЛКП1.1 (или его вариант) расположен в области между ОНП_01 в SEQ ID NO: 1 (или в его варианте) и ОНП_16 в SEQ ID NO: 16 (или в его варианте).

Таким образом, в одном аспекте культивируемое растение *Cucumis sativus* сорт *sativus*, содержащее фрагмент интрогрессии на хромосоме 1 в гомозиготной или гетерозиготной форме, отличающийся тем, что указанный фрагмент интрогрессии обеспечивает увеличение резистентности к ToLCNDV-ES (по сравнению с растением, лишенным фрагмента интрогрессии, например генетическим контрольным

растением), и отличающийся тем, что указанный фрагмент интрогрессии включает в себя маркерный гаплотип ОНП или генотип, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 SNP маркеров, выбранных из группы, состоящей из:

- a) TX или TT генотип для маркера ОНП_01 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 1 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- b) TX или TT генотип для маркера ОНП_02 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 2 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- c) TX или TT генотип для маркера ОНП_03 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 3 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- d) TX или TT генотип для маркера ОНП_04 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 4 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- e) AX или AA генотип для маркера ОНП_05 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 5 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- f) CX или CC генотип для маркера ОНП_06 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 6 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- g) TX или TT генотип для маркера ОНП_07 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 7 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- h) AX или AA генотип для маркера ОНП_08 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 8 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- i) GX или GG генотип для маркера ОНП_09 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 9 (или на нуклеотиде 51 в его варианте); или AX или AA генотип для маркера ОНП_09 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 9 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- j) CX или CC генотип для маркера ОНП_10 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 10 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- k) CX или CC генотип для маркера ОНП_11 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 11 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);

- l) CX или CC генотип для маркера ОНП_12 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 12 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- m) TX или TT генотип для маркера ОНП_13 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 13 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- n) AX или AA генотип для маркера ОНП_14 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 14 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- o) CX или CC генотип для маркера ОНП_15 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 15 (или на нуклеотиде 51 в его варианте); или TX или TT генотип для Однонуклеотидного Полиморфизма маркера ОНП_15 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 15 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- p) GX или GG генотип для маркера ОНП_16 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 16 (или на нуклеотиде 51 в его варианте).

При указании ОНП в альтернативной последовательности данная вариантная последовательность, по меньшей мере, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична упомянутой последовательности. X обозначает любой нуклеотид последовательности на другой хромосоме 1 пары хромосом. В одном аспекте X может быть нуклеотидом рекуррентного родителя, как указано в Таблице 1.

В одном аспекте, указанные, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 маркеры являются последовательными маркерами.

Фрагмент ЛКП1.1, таким образом, может быть большим (содержащим ОНП_01 - ОНП_16), а может быть меньшим и не содержать маркеров, имеющих генотип или гаплотип дикого огурца (т.е. маркеры вместо этого имеют генотип или гаплотип посевного огурца, см. также таблицу 1 (гаплотип ОНП рекуррентного родителя), но при этом он все же может придавать посевному огурцу повышенную резистентность к ToLCNDV-ES, т.е. он все еще может содержать аллель ToLCNDV-ES (ЛКП1.1 или вариант). Такие меньшие фрагменты интрогрессии представляют собой вариант осуществления изобретения. Растения, имеющие меньшие фрагменты интрогрессии, которые тем не менее обеспечивают повышение резистентности к ToLCNDV-ES (т.е. содержат аллель резистентности), могут быть получены с использованием известных

методов, таких как точное картирование или аналогичные методы. Например, начиная с растения, содержащего фрагмент интрогрессии, который встречается в семенах, депонированных под идентификационным номером NCIMB 43745, и скрещивая такое растение с другим растением посевного огурца и самоопыляя потомство от указанного скрещивания, и/или осуществляя обратное скрещивание потомства, для получения популяции растений, которые могут содержать рекомбинанты, имеющие меньший фрагмент интрогрессии на хромосоме 1, причем указанные фрагменты все еще придают повышенную резистентность к ToLCNDV-ES по сравнению с растением, лишенным фрагмента интрогрессии (такого как генетическое контрольное растение, например растения, выращенные из семян, депонированных под номером NCIMB42344), например, фрагмент, содержащий маркеры ОНП_01 - ОНП_05, или ОНП_05 - ОНП_10, или ОНП_10 - ОНП_16 или ОНП_04 - ОНП_12. Для определения размера меньшего фрагмента интрогрессии можно использовать метод маркерного анализа. Могут отсутствовать один или более маркеров ОНП с генотипом или гаплотипом дикого огурца-донора. Затем по этим маркерам ОНП определяют генотип или гаплотип посевного огурца. Резистентность к ToLCNDV-ES растений, содержащих меньший фрагмент интрогрессии, можно сравнить с помощью анализа заболеваний, как описано по тексту настоящей заявки, т.е. путем выращивания множества растений, содержащих меньший фрагмент интрогрессии, в экспериментах вместе с подходящими контрольными растениями, в которых отсутствует фрагмент интрогрессии. Контрольные растения предпочтительно представляют собой генетические контрольные сорта, такие как NCIMB43744. Если средний индекс заболеваемости ToLCNDV-ES остается значительно выше, по сравнению с контрольным, то меньший фрагмент интрогрессии сохраняет ЛКП1.1.

В некоторых случаях, тот же ЛКП или вариант ЛКП (ЛКП1.1 или вариант ЛКП1.1) может быть интрогрессирован из разных образцов дикого донора, отличающихся тем, что в нем необязательно могут присутствовать все маркеры ОНП, предусмотренные настоящей заявкой, т.е. гаплотип ОНП донорского образца может быть только идентичен гаплотипу ОНП ЛКП1.1, присутствующего в семенах NCIMB43745 для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более ОНП. Указанные альтернативные источники получения дикого огурца можно идентифицировать с

использованием предусмотренных настоящей заявкой маркеров ОНП путем скрининга зародышевой плазмы (т.е. образцов) дикого или примитивного огурца с использованием маркерного анализа для обнаружения генотипа или гаплотипа одного или более маркеров ОНП_01 - ОНП_16, или маркеров ОНП_01 - ОНП_05, ОНП_05 - ОНП_10, ОНП_10 - ОНП_16 или ОНП_04 - ОНП_12 или даже меньшей подгруппы указанных маркеров (например, 2, 3 или 4). Например, в Таблице 1 показаны различные доноры (PI605996, CGN22263, CGN22932, также известный как PI197087), которые имеют одинаковый или похожий гаплотип ОНП для ОНП_01 - ОНП_16. Таким же образом могут быть идентифицированы и другие доноры, содержащие ЛКП1.1 или его вариант. Растения, содержащие тот же или вариант ЛКП1.1 от указанных доноров или из других источников, также представляют собой вариант реализации изобретения. Таким образом, при условии, что присутствуют хотя бы 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более (или все) ОНП ОНП_01 - ОНП_16, или SNP ОНП_01 - ОНП_05, или SNP ОНП_05 - ОНП_10, или ОНП_10-ОНП_16, или ОНП_04-ОНП_12, донор может содержать ЛКП1.1 (или его вариант) и предусмотрен настоящей заявкой. Затем специалист в данной области может выполнить интрогрессию ЛКП1.1 (или его вариант) в посевной огурец, чтобы повысить резистентность к ToLCNDV-ES, как описано по тексту настоящей заявки, и подтвердить, что ЛКП повышает резистентность к ToLCNDV-ES в случаях, когда он присутствует в посевном огурце. Перед интрогрессией дикий донор также может быть проверен на резистентность к ToLCNDV-ES с помощью анализа, как указано выше, и, например, может быть выбран донор, имеющий средний индекс заболеваемости ToLCNDV-ES, например, по меньшей мере, 7,5, 8,0, 8,5 или 9,0.

Как описано выше, в одном варианте осуществления растение посевного огурца по изобретению содержит фрагмент интрогрессии, содержащий, по меньшей мере, подмножество ОНП-маркеров с генотипом (или гаплотипом) дикого донорского огурца, т.е. не менее 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или более маркеров ОНП_01 - ОНП_16, или не менее 3 маркеров ОНП_01 - ОНП_05, или ОНП_05 - ОНП_10, или ОНП_10 - ОНП_16, или ОНП_04 - ОНП_12. В одном аспекте растение посевного огурца содержит все или все, кроме 1 или 2 маркеров ОНП_01 - ОНП_16, или ОНП_01 - ОНП_5, или ОНП_05 - ОНП_10, или ОНП_10 - ОНП_16, или ОНП_04 - ОНП_12.

Таким образом, фрагмент интрогрессии (и растения или части растения посевного огурца, например, клетки, содержащей фрагмент интрогрессии) можно обнаружить в рамках маркерного анализа путем обнаружения генотипа ОНП или гаплотипа фрагмента интрогрессии (т.е. дикого донорского огурца зародышевой плазмы) одного или более или всех вышеуказанных маркеров, предпочтительно, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более.

Таким образом, в одном аспекте было установлено, что локус количественного признака (ЛКП1.1) присутствует на хромосоме 1 донора дикого огурца, который при переносе (интрогрессии) в сорт или селекционную линию посевного огурца, а также при присутствии в гетерозиготной или гомозиготной форме, значительно повышает резистентность к ToLCNDV-ES растения посевного огурца. ЛКП, или фрагмент интрогрессии, включающий в себя ЛКП (включающий в себя аллель резистентности к ToLCNDV), является, таким образом, аддитивным, т.е. достаточно иметь фрагмент интрогрессии на одной из хромосом 1 (одна рекомбинантная хромосома 1), при этом гомологичная хромосома 1 пары может быть (нерекомбинантной) хромосомой 1 посевного *C. sativus* var. *sativus*, в котором отсутствует фрагмент интрогрессии.

Несмотря на то, что нынешний источник ЛКП1.1, который использовался для картирования и интрогрессии ЛКП, является единственным специфическим диким источником, существуют и другие дикие образцы, которые содержат ЛКП1.1 (или вариант) в том же локусе на хромосоме 1. Например, было установлено, что дикие образцы PI605996, CGN22263 и CGN22932 (также известные как PI197087) содержат одинаковый или очень похожий гаплотип ОНП для маркеров ОНП_01 - ОНП_16 (как указано в Таблице 1) и оказались резистентными к ToLCNDV-ES. Таким образом, (вариант) ЛКП1.1 от тех или иных доноров может быть интрогрессирован в посевной огурец, в некоторых случаях в комбинации с одним или более из ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1. Аналогично, другие образцы диких или примитивных огурцов могут быть проверены на наличие гаплотипа ОНП или генотипа одного или более или всех ОНП_01 - ОНП_16.

Такие другие доноры могут содержать аллель резистентности к ToLCNDV-ES, который включает в себя немного другие нуклеотидные последовательности, т.е.

варианты аллеля (ЛКП1.1), предусмотренные настоящей заявкой. Указанные варианты ЛКП также можно идентифицировать и интрогрессировать в посевной огурец, как указано по тексту настоящей заявки, для получения растения посевного огурца, содержащего геном посевного огурца *C. sativus* сорт *sativus* и рекомбинантную хромосому 1, отличающийся тем, что рекомбинантная хромосома 1 содержит фрагмент интрогрессии, который придает повышенную резистентность к ToLCNDV-ES растению посевного огурца, когда он представлен в гомозиготной или гетерозиготной форме. Для того, чтобы идентифицировать указанные образцы диких доноров, содержащих ЛКП1.1, можно провести скрининг диких образцов, например, путем анализа маркеров или сравнения последовательностей или других методов на наличие одного или более ОНП-маркеров, предусмотренных настоящей заявкой. Предполагаемый ЛКП (или вариант ЛКП) затем может быть интрогрессирован в посевной огурец, например, с использованием MAS, т.е. с использованием одного или более (или всех) ОНП-маркеров, предусмотренных настоящей заявкой, для обнаружения и/или селекции растений-потомков (например, растений обратного скрещивания), содержащих рекомбинантную хромосому 1. Прошедшие селекцию растения, т.е. растения посевного огурца, содержащие фрагмент интрогрессии хромосомы 1, отличающиеся тем, что фрагмент интрогрессии хромосомы 1 выявляется с помощью 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более ОНП-маркеров ОНП_01 - ОНП_16, которые затем могут быть фенотипированы в рамках анализа заболеваемости ToLCNDV-ES вместе с подходящими контрольными растениями, предпочтительно, по меньшей мере, с генетическими контрольными растениями для того, чтобы определить, действительно ли фрагмент интрогрессии вызывает значительное увеличение резистентности к ToLCNDV-ES.

Образцы дикого или примитивного огурца можно получить, например, из коллекции семян Национальной системы зародышевой плазмы растений Министерства сельского хозяйства США или других коллекций семян, и, таким образом, их можно проверить на наличие ЛКП1.1, используя, например, маркерный анализ, как описано в настоящем документе, и образцы, содержащие 5 или более маркеров ОНП (например, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более маркеров ОНП, указывающих на ЛКП1.1 или его вариант), можно скрещивать с растением посевного

огурца, содержащим нормальные нерекомбинантные хромосомы 1 дикого типа. Поколение F1 или F2 (или дальнейшее поколение, такое как поколение F3 или поколение обратного скрещивания) может затем подвергаться скринингу на наличие рекомбинантных растений, содержащих фрагмент интрогрессии или его часть, с использованием анализа молекулярных маркеров, описанных по тексту настоящей заявки.

В одном аспекте, фрагмент интрогрессии получен от донора, содержащего гаплотип ОНП для ЛКП1.1, как указано в Таблице 1 для интрогрессионного донора (NCIMB43745), PI605996, CGN22263 или CGN22932, также именуемого PI197087.

В конкретном варианте осуществления фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКП1.1 (или его вариант) для ToLCNDV-ES, может быть получен из или выведен из или сформирован из; или присутствует в) семян(-ах), репрезентативный образец которых был депонирован под идентификационным номером NCIMB 43745, или из его потомства, или из семян, имеющих идентификационный номер PI605996 (коллекция USDA ARS-GRIN), или из семян, имеющих идентификационный номер CGN22263 или CGN22932 (коллекция Wageningen CGN), или из семян, имеющих идентификационный номер PI197087 (USDA) коллекции ARS-GRIN) или от потомков любого из них. Потомство может представлять собой любое потомство, которое сохраняет маркеры ОНП или гаплотип, указывающий на ЛКП (и связанный с ним), как указано в тексте. Таким образом, потомство не ограничивается потомством F1 или F2 депозита или образца, но может представлять собой любое потомство, независимо от того, получено ли оно путем самоопыления и/или скрещивания с другим растением огурца.

В одном варианте осуществления фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКП1.1 (или вариант), можно идентифицировать с помощью одного или нескольких маркеров, описанных в других местах настоящего документа, особенно маркеров ОНП_01-ОНП_16 для фрагмента интрогрессии на хромосоме 1 или подмножества маркеров, таких как один или более маркеров, выбранных из маркеров SNP ОНП_01 - ОНП_05, или SNP ОНП_05 - ОНП_10, или SNP ОНП_10 - ОНП_16, или SNP ОНП_04 - ОНП_12. В одном аспекте изобретение относится к растению посевного огурца, имеющему

геном посевного (одомашненного) огурца, который обладает повышенной резистентностью к ToLCNDV-ES, при этом повышенная резистентность обеспечивается за счет фрагмента интрогрессии на хромосоме 1 посевного огурца, причем указанный фрагмент интрогрессии получают путем скрещивания культурного растения, выращенного из семян, депонированных под номером NCIMB 43745, или потомства такого растения (которое содержит один или несколько описываемых по тексту настоящей заявки маркеров, связанных с ЛКП) с растением посевного огурца. Таким образом, в одном аспекте растение посевного огурца по настоящему изобретению содержит тот же фрагмент интрогрессии и ту же рекомбинантную хромосому 1, что и представленные в NCIMB 43745 (содержащий весь гаплотип дикого донора для ОНП-маркеров ОНП_01 - ОНП_16 или содержащий SEQ ID NO: от 1 до 16), или содержит более короткий фрагмент указанного фрагмента интрогрессии, отличающегося тем, что короткий фрагмент сохраняет генетический элемент, придающий резистентность к ToLCNDV-ES (ЛКП1.1).

Таким образом, в одном аспекте изобретение относится к растению по изобретению, т.е. посевному *Cucumis sativus* сорт *sativus*, содержащему фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКП1.1 из дикого огурца на хромосоме 1 в гомозиготной или гетерозиготной форме, причем указанный фрагмент интрогрессии представляет собой фрагмент интрогрессии «как в» / «идентичный» / «такой же, как в» семенах, депонированных под номером NCIMB 43745, или является его более коротким фрагментом, но при этом также придает повышенную резистентность к ToLCNDV-ES благодаря присутствию ЛКП1.1.

Поскольку SEQ ID NO: 1-16 принадлежат дикому донору, использованному для получения NCIMB43745, они могут использоваться для идентификации фрагмента интрогрессии или субфрагментов конкретного донора.

В еще одном варианте изобретение относится к растению по изобретению, т.е. растение посевного огурца *Cucumis sativus* сорт *sativus*, содержащее фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКП1.1 (или вариант) дикого огурца на хромосоме 1 в гомозиготной или гетерозиготной форме, причем указанный фрагмент интрогрессии является фрагментом интрогрессии, который представляет собой вариант фрагмента

интрогрессии семян, депонированных под номером NCIMB 43745, т.е. содержит ЛКП1.1 (или его вариант), при этом геномная последовательность может быть другой. Поскольку дикие образцы будут генетически дивергентными, геномная последовательность фрагмента интрогрессии, содержащего ЛКП1.1 из других диких или примитивных огурцов, скорее всего, не будет идентична геномной последовательности, интрогрессированной в NCIMB 43745, и даже ген, передающий резистентность к ToLCNDV-ES (включая промоторы, интроны и экзоны) может отличаться по нуклеотидной последовательности, при этом функция будет той же, т.е. обеспечение повышенной резистентности. Расхождение проявляется в том, что некоторые маркеры ОНП, связанные с ЛКП1.1, обычно встречаются в различных образцах, в то время как другие маркеры ОНП могут быть обнаружены только в определенных образцах. Так, например, не все ОНП_01–ОНП_16 можно обнаружить у других доноров дикого огурца. Например, PI605996 имеет немного другой гаплотип ОНП для ОНП_01 — ОНП_16, при этом ОНП_09 и ОНП_15 имеют другой нуклеотид. При этом ЛКП1.1 (содержащий, например, вариант или ортолог аллеля резистентности к ToLCNDV-ES) по-прежнему может присутствовать в таких диких образцах. Специалист в данной области способен идентифицировать и выполнить интрогрессию области, содержащей ЛКП1.1, встречающуюся у других доноров дикого огурца, в посевной огурец, например, путем обнаружения диких образцов, содержащих маркеры ОНП или их подмножество, и переноса таких маркеров ОНП (или подмножества) в линию или сорт посевного огурца, и выполнив оценку резистентности культивируемой линии или сорта к ToLCNDV-ES по сравнению с линией или сортом, не имеющими маркеров ОНП (или их подмножества), т.е. линией или сортом, у которых отсутствует фрагмент интрогрессии. Даже в тех случаях, когда гаплотип ОНП для ОНП_01 - ОНП_16 идентичен гаплотипу ОНП ЛКП1.1, встречающемуся в семенах NCIMB 43745, фактические нуклеотидные последовательности, фланкирующие ОНП на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 1 – 16 у других доноров могут отличаться. Таким образом, другие доноры могут содержать тот же нуклеотид ОНП на нуклеотиде 51, но в последовательности, которая, по меньшей мере, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности SEQ ID NO: 01 – 16, в случае, например, попарного выравнивания. Данную вариацию можно увидеть

путем секвенирования доноров и выравнивания последовательностей SEQ ID NO: 1 – 16 с указанной последовательностью.

В одном варианте осуществления наличие фрагмента интрогрессии, содержащей ЛКП1.1, или область хромосомы 1 (вариант или ортологическую область хромосомы 1), содержащей ЛКП1.1, обнаруживается с помощью анализа молекулярных маркеров, который позволяет выявить, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 маркеров однонуклеотидного полиморфизма (ОНП), выбранных из группы, состоящей из:

- a) ТХ или ТТ генотип для маркера ОНП_01 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 1 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- b) ТХ или ТТ генотип для ОНП_02 Однонуклеотидного Полиморфизма маркера на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 2 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- c) ТХ или ТТ генотип для ОНП_03 Однонуклеотидного Полиморфизма маркера на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 3 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- d) ТХ или ТТ генотип для ОНП_04 Однонуклеотидного Полиморфизма маркера на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 4 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- e) АХ или АА генотип для ОНП_05 Однонуклеотидного Полиморфизма маркера на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 5 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- f) СХ или СС генотип для маркера ОНП_06 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 6 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- g) ТХ или ТТ генотип для ОНП_07 Однонуклеотидного Полиморфизма маркера на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 7 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- h) АХ или АА генотип для маркера ОНП_08 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 8 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- i) GX или GG генотип для маркера ОНП_09 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 9 (или на нуклеотиде 51 в его варианте); или АХ или АА генотип для Однонуклеотидного Полиморфизма маркера ОНП_09 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 9 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);

- j) CX или CC генотип для маркера ОНП_10 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 10 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- k) CX или CC генотип для маркера ОНП_11 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 11 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- l) CX или CC генотип для маркера ОНП_12 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 12 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- m) TX или TT генотип для маркера ОНП_13 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 13 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- n) AX или AA генотип для маркера ОНП_14 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 14 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- o) CX или CC генотип для маркера ОНП_15 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 15 (или на нуклеотиде 51 в его варианте); или TX или TT генотип для маркера ОНП_15 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 15 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- p) GX или GG генотип для маркера ОНП_16 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 16 (или на нуклеотиде 51 в его варианте).

В одном аспекте, указанные, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 маркеров, которые выявлены, являются последовательными маркерами.

Таким образом, в одном варианте осуществления, растения согласно изобретению содержат, по меньшей мере, Тиамин (Т) (т.е. TT или TX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 1 (именуемый ОНП_01) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:1 (другими словами, это Тиамин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 1);

и/или, по меньшей мере, Тиамин (Т) (т.е. TT или TX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 2 (именуемый ОНП_02) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:2 (другими словами, это Тиамин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 1);

и/или, по меньшей мере, Тиамин (Т) (т.е. ТТ или ТХ генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 3 (именуемый ОНП_03) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:3 (другими словами, это Тиамин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 1);

и/или, по меньшей мере, Тиамин (Т) (т.е. ТТ или ТХ генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 4 (именуемый ОНП_04) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:4 (другими словами, это Тиамин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 1);

и/или, по меньшей мере, Аденин (А) (т.е. АА или АХ генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 5 (именуемый ОНП_05) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:5 (другими словами, это Аденин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 1);

и/или, по меньшей мере, Цитозин (С) (т.е. СС или СХ генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 6 (именуемый ОНП_06) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:6 (другими словами, это Цитозин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 1);

и/или, по меньшей мере, Тиамин (Т) (т.е. ТТ или ТХ генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 7 (именуемый ОНП_07) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:7 (другими словами, это Тиамин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 1);

и/или, по меньшей мере, Аденин (А) (т.е. АА или АХ генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 8 (именуемый ОНП_08) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:8 (другими словами, это Аденин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 1);

и/или, по меньшей мере, Гуанин (G) (т.е. GG или GX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 9 (именуемый ОНП_09) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:9 (другими словами, это Гуанин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 1); и/или, по меньшей мере, Аденин (A) (т.е. AA или AX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 9 (именуемый ОНП_09) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:9 (другими словами, это Аденин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 1);

и/или, по меньшей мере, Цитозин (C) (т.е. CC или CX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 10 (именуемый ОНП_10) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:10 (другими словами, это Цитозин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 1);

и/или, по меньшей мере, Цитозин (C) (т.е. CC или CX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 11 (именуемый ОНП_11) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:11 (другими словами, это Цитозин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 1);

и/или, по меньшей мере, Цитозин (C) (т.е. CC или CX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 12 (именуемый ОНП_12) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:12 (другими словами, это Цитозин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 1);

и/или, по меньшей мере, Тиамин (T) (т.е. TT или TX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 13 (именуемый ОНП_13) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:13 (другими словами, это Тиамин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 1);

и/или, по меньшей мере, Аденин (А) (т.е. АА или АХ генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 14 (именуемый ОНП_14) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:14 (другими словами, это Аденин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 1);

и/или, по меньшей мере, Цитозин (С) (т.е. СС или СХ генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 15 (именуемый ОНП_15) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:15 (другими словами, это Цитозин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 1); и/или, по меньшей мере, Тиамин (Т) (т.е. ТТ или ТХ генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 15 (именуемый ОНП_15) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:15 (другими словами, это Тиамин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 1);

и/или, по меньшей мере, Гуанин (G) (т.е. GG или GX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 16 (именуемый ОНП_16) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:16 (другими словами, это Гуанин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 1).

В еще одном варианте осуществления наличие фрагмента интрогрессии или области хромосомы 1 (или варианта или ортологической области хромосомы 1), содержащей ЛКП1.1, можно обнаружить с помощью анализа молекулярных маркеров, который выявляет, по меньшей мере, 3, 4 или 5 маркеров однонуклеотидного полиморфизма (ОНП) в составе подгрупп, состоящих из: ОНП_01 - SNP05; ОНП_05 - ОНП_10; ОНП_10 - ОНП_15; или ОНП_04 - ОНП_12.

Генотип ОНП обозначает два нуклеотида и геномные последовательности, содержащие один из этих двух нуклеотидов, по одному на каждой хромосоме 1. Так, растение, имеющее генотип ТТ по ОНП_01, имеет идентичный нуклеотид (Т) на обеих хромосомах (т.е. является гомозиготным), а растение, имеющее генотип ТХ по

ОНП_01, имеет одну хромосому с Т на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 1 (или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:1) и одну хромосому Х на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 1 (или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:1) и является гетерозиготным, при этом Х может представлять собой любой нуклеотид. Поскольку геномные последовательности вокруг маркеров ОНП, указанные по тексту настоящей заявки, могут незначительно отличаться во фрагментах интрогрессии от других доноров дикого огурца (т.е. варианты или ортологические области хромосомы 1), очевидно, что нуклеотидные последовательности до и после ОНП не могут быть на 100% идентичны последовательностям, представленным в настоящей заявке. Таким образом, настоящей заявкой предусмотрены последовательности, которые в значительной степени идентичны (т.е., по меньшей мере, на 95%) последовательностям, представленным в настоящем документе, и при этом содержат ОНП.

В одном аспекте фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКП1.1 или область хромосомы 1 (или вариант или ортологическая область хромосомы 1), содержащую ЛКП (ЛКП1.1 или вариант), который выявляется с помощью одного или более указанных выше маркеров, от дикого или примитивного огурца, и в одном аспекте дикий или примитивный огурец относится к индийской группе огурцов. В одном аспекте это тот же фрагмент интрогрессии, который обнаружен на хромосоме 1 в семенах, депонированных под идентификационным номером NCIMB 43745, или меньший фрагмент, сохраняющий ЛКП. Маркеры ОНП ОНП_01–ОНП_16 охватывают область размером порядка 8 Мб. В одном аспекте размер фрагмента интрогрессии хромосомы 1 не превышает 8 Мб, предпочтительно не превышает 7,98 Мб, более предпочтительно не превышает 7, 6, 5, 4, 3 или 2,5 Мб по размеру, например, не превышает 2 Мб. В одном аспекте фрагмент интрогрессии имеет размер не менее 0,2 Мб, 0,5 Мб, 1,0 Мб, 1,5 Мб, 1,9 Мб, 2,0 Мб, 2,5 Мб, 2,7 Мб или 3 Мб. Таким образом, сюда включены различные диапазоны размеров интрогрессии, такие как фрагменты размером менее 8 Мб, но более 0,2 Мб, менее 6 Мб или 3 Мб, но более 0,2 Мб, 0,5 Мб или 1 Мб и т.д., которые содержат ЛКП1.1 и один или более маркеров

ОНП ОНП_01 – ОНП_16 или подгрупп ОНП_01 - ОНП_05; ОНП_05 - ОНП_10; ОНП_10 - ОНП_16 или ОНП_04 - ОНП_12. Как указывалось выше, местоположение ЛКП1.1 в области, охватывающей ОНП_01 – ОНП_16, может быть определено с помощью точного картирования и рекомбинантов, содержащих ЛКП1.1 на меньшем фрагменте интрогрессии. Размер фрагмента интрогрессии можно без труда определить, например, путем полногеномного секвенирования или секвенирования следующего поколения, как, например, описано в работе *Qi et al. 2013 (см. выше)* или в *Huang et al. 2009 г. (см. выше)*. Области интрогрессии особенно легко можно отличить от культивируемых геномных областей из-за большего количества генетических вариаций (ОНП, вставок/делеций и т.д.) в области интрогрессии.

Для получения фрагмента интрогрессии на хромосоме 1 (содержащего ЛКП1.1) из депонированных семян (NCIMB43745), т.е. для переноса фрагмента интрогрессии, содержащего ЛКП, в другое растение посевного огурца, растение выращивают из семени и скрещивают с растением посевного огурца для получения семян F1. Поскольку NCIMB43745 содержит две рекомбинантные хромосомы 1 (включающие в себя фрагмент интрогрессии), все семена F1 и растения, выращенные из них, содержат одну рекомбинантную хромосому 1 от родителя NCIMB43745 и одну нерекомбинантную хромосому 1 от другого культивируемого родителя. Таким образом, путем традиционной селекции можно перенести рекомбинантную хромосому 1 из NCIMB43745 в другие культивируемые линии или сорта огурца. Растения, которые содержат ЛКП1.1, можно подвергать скринингу и селекции по наличию одного или более вышеуказанных ОНП-маркеров с тем, чтобы идентифицировать растения, содержащие рекомбинантную хромосому 1.

Для получения более коротких фрагментов интрогрессии (содержащий ЛКП1.1) должен произойти мейоз и должны быть идентифицированы растения, содержащие рекомбинантные хромосомы 1, и особенно новые события мейотической рекомбинации внутри фрагмента интрогрессии. Например, семена NCIMB43745 могут один или более раз подвергаться самоопылению для получения растений F1, F2 или F3 (или дальнейших самоопыляющихся поколений), и/или растений F1, F2 или F3 (и т.д.), содержащие рекомбинантную хромосому 1 и скрещиваться с культурным родителем. Растения, которые содержат рекомбинантную хромосому 1, можно

подвергать скринингу и селекции на предмет наличия одного или более из вышеуказанных ОНП-маркеров, что позволит идентифицировать растения, содержащие меньший фрагмент интрогрессии. Такие новые рекомбинанты затем можно тестировать на наличие ЛКП1.1 на меньшем фрагменте интрогрессии путем определения среднего индекса заболеваемости в анализе заболеваемости ToLCNDV-ES по сравнению с (генетическим) контрольным растением, лишенным фрагмента интрогрессии.

Аналогичным образом, растения посевного огурца, содержащие ЛКП1.1 (или его вариант), могут быть получены и/или идентифицированы с использованием различных методов. Например, чтобы получить растение посевного огурца, содержащее фрагмент интрогрессии от дикого донора, идентифицируют дикого донора, который содержит один или более ОНП-маркеров, связанных с ЛКП1.1, указанных по тексту настоящей заявки, например, один, или более, или все маркеры, указанные выше по тексту настоящей заявки. Это, например, было сделано для различных диких образцов, см. раздел «Примеры». Идентифицированное растение скрещивают с растением посевного огурца для получения семян F1. Из F1 можно самостоятельно получить F2, F3 и т.д. растения, и/или растения F2 или растения F3, и т.д., можно выполнять обратное скрещивание с родительским посевным огурцом. Растения, которые содержат ЛКП1.1 (или его вариант), могут подвергаться скринингу и/или селекции по наличию одного или более из указанных выше ОНП-маркеров и/или подвергаться скринингу и/или селекции по фенотипу повышенной резистентности к ToLCNDV-ES по сравнению с исходным культивируемым родителем (без интрогрессий). В некоторых случаях или в дополнение может выполняться картирование ЛКП для идентификации дополнительных молекулярных маркеров, связанных с ЛКП1.1 (или его вариантом) и/или получения растений посевного огурца, содержащих фрагмент интрогрессии на хромосоме 1, который в значительной степени повышает резистентность к ToLCNDV-ES.

В одном варианте осуществления наличие фрагмента интрогрессии в растении посевного огурца или области хромосомы 1 (или ортологической области хромосомы 1), содержащей ЛКП1.1, можно обнаружить с помощью анализа молекулярных

маркеров, который позволяет установить, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более маркеров, выбранных из группы, состоящей из:

- a) TT или TX генотип для маркера ОНП_01 однонуклеотидного полиморфизма в SEQ ID NO: 1 (или в его варианте);
- b) GG или GX генотип для маркера ОНП_16 однонуклеотидного полиморфизма в SEQ ID NO: 16 (или в его варианте);
- c) любой маркер, специфичный для генома дикого огурца в положении между маркером ОНП_01 и ОНП_16.

В одном аспекте, маркеры, указанные в подпункте c), представляют собой один или более ОНП_02 - ОНП_15. В одном аспекте, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более маркеров обнаруживаются из указанных выше маркеров a), b) и/или c). В одном варианте осуществления обнаруживается, по меньшей мере, маркер a) и/или b) и в некоторых случаях, по меньшей мере, один, два, три или более маркеров c). В одном аспекте, обнаруженные маркеры являются последовательными маркерами.

Любой специфичный для генома дикого огурца маркер в промежуточном положении между двумя маркерами относится к любому молекулярному маркеру, который генетически картируется в области хромосомы 1 между двумя маркерами и/или который физически находится между двумя маркерами и указывает на область хромосомы 1 дикого огурца. Это означает, что маркер является полиморфным между геномом посевного огурца и геномом дикого огурца. В одном аспекте маркер представляет собой однонуклеотидный полиморфизм (ОНП), при этом также могут использоваться другие молекулярные маркеры, такие как RFLP, AFLP, RAPD, секвенирование ДНК и т.д.

Фрагмент интрогрессии в растениях по настоящему изобретению находится в одном аспекте фрагмента хромосомы 1 (содержащей ЛКП1.1), который присутствует в семенах, депонированных под идентификационным номером NCIMB43745, или уменьшенной версии этого фрагмента, сохраняющего ЛКП (получаемого, например, путем рекомбинации внутри фрагмента интрогрессии).

Фрагмент интрогрессии в одном аспекте имеет размер, который не превышает 8 Мб, предпочтительно не превышает 7 Мб, 5 Мб, 3 Мб, 2,5 Мб, 2 Мб, 1,5 Мб, 1 Мб. В другом аспекте, фрагмент интрогрессии имеет размер не менее 0,5 Мб или не менее 1 Мб.

Также предусмотрены семена, из которых можно вырастить растение по изобретению, а также плоды огурца, собранные с растения по изобретению и содержащие в своем геноме рекомбинантную хромосому 1 (ЛКП1.1 или вариант). Аналогичным образом предусмотрена растительная клетка, ткань или часть растения или семени, содержащая, по меньшей мере, одну рекомбинантную хромосому 1 (содержащую ЛКП1.1 или вариант), отличающаяся тем, что указанная рекомбинантная хромосома 1 содержит фрагмент интрогрессии дикого или примитивного огурца, и указанный фрагмент интрогрессии содержит аллель, обеспечивающий значительное повышение резистентности к ToLCNDV-ES.

Молекулярные маркеры, описанные по тексту настоящей заявки, могут быть обнаружены стандартным методом. Например, маркеры ОНП можно легко обнаружить с помощью анализа KASP (см. www.kpbioscience.co.uk) или других методов генотипирования ОНП. Для подготовки KASP-анализа можно выбрать, например, 50 или 70 пар оснований выше и 50 или 70 пар оснований после ОНП, а также сформировать два аллель-специфичных прямых праймера и один аллель-специфичный обратный праймер. Описание метода KASP приведено, например, в работе Allen et al. 2011 г., Plant Biotechnology J. 9, 1086-1099, стр. 097-1098.

Таким образом, в одном аспекте маркеры ОНП и наличие/отсутствие маркера, связанного с ЛКП1.1, определяют с использованием анализа KASP, при этом в равной степени можно использовать и другие методы генотипирования ОНП. Например, в равной степени можно использовать генотипирование ОНП TaqMan, анализ кривых плавления с высоким разрешением, массивы генотипирования ОНП (например, Fluidigm, Illumina и т.д.) или секвенирование ДНК.

Физический размер фрагмента интрогрессии может быть определен различными методами, такими как физическое картирование, секвенирование или

визуализация интрогрессии с помощью изображений флуоресцентной гибридизации *in situ* (Verlaan et al., 2011 г., Plant Journal 68: 1093-1103).

Растения посевного огурца с меньшими фрагментами интрогрессии на хромосоме 1 (содержащий ЛКП1.1 или его вариант) можно получить путем создания новых рекомбинантных растений из популяции растений, полученных в результате скрещивания растения посевного огурца (без интрогрессии), растения по изобретению и селекции рекомбинантного потомства с меньшим размером интрогрессии. Таким образом, указанные растения в одном аспекте получены от (потомства или потомков) рекомбинантной хромосомы 1, присутствующей в растениях, семена которых были депонированы под номером NCIMB43745. Настоящая заявка охватывает такое потомство или потомков, которые сохраняют ЛКП1.1 и, следовательно, более высокую резистентность к ToLCNDV-ES по сравнению с растениями без интрогрессии.

ЛКП1.2 или вариант ЛКП1.2 на хромосоме 1

Таким образом, в одном аспекте предусмотрено растение посевного огурца, содержащее фрагмент интрогрессии из дикого или примитивного огурца, отличающееся тем, что фрагмент интрогрессии содержит ЛКП1.2 или его вариант, а также отличающееся тем, что фрагмент интрогрессии содержит всю или часть области, начинающейся с нуклеотида (или основания) 22942981 хромосомы 1 (соответствует - ОНП_17) и заканчивающейся на нуклеотиде (или основании) 25543032 хромосомы 1 (соответствует - ОНП_31). Другими словами, вся или часть области, начинающейся на нуклеотиде 22942981 (ОНП_17) хромосомы 1 и заканчивающейся на нуклеотиде 25543032 (ОНП_31) хромосомы 1, в одном аспекте происходит из дикого огурца-донора и содержит ЛКП1.2 или его вариант. Подобласть, которая содержит ЛКП1.2, можно определить, например, с использованием метода точного картографирования. Так, например, если установлено, что ЛКП1.2 находится в промежуточном положении между ОНП_17 и ОНП_22, то растение по изобретению должно содержать лишь область интрогрессии, начинающуюся с нуклеотидов 22942981 хромосомы 1 (ОНП_17) и заканчивающуюся нуклеотидами 23844859 (ОНП_22) хромосомы 1.

В одном аспекте, ЛКП1.2 (или его вариант) расположен между маркером ОНП_17 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 17 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 17) и маркером ОНП_31 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 31 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 31). В другом аспекте, ЛКП1.2 (или его вариант) расположен между маркером ОНП_17 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 17 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 17) и маркером ОНП_22 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 22 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 22). В другом аспекте, ЛКП1.2 (или его вариант) расположен между маркером ОНП_22 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 22 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 22) и маркером ОНП_27 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 27 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 27). В другом аспекте, ЛКП1.2 (или его вариант) расположен между маркером ОНП_27 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 27 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 27) и маркером ОНП_31 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 31 (или нуклеотид 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 31). В другом аспекте, ЛКП1.1 (или его вариант) расположен между маркером ОНП_20 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 20 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 20) и маркером ОНП_29 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 29 (или нуклеотид 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 29).

В другом аспекте, фрагмент интрогрессии согласно изобретению (содержащий ЛКП1.1 или его вариант) представляет собой фрагмент, содержащий меньший фрагмент (часть) участка, начинающегося на нуклеотиде (или основании) 22942981 хромосомы 1 и заканчивающегося на нуклеотиде (или основании) 25543032 хромосомы 1, например, имеющий размер, например, 2,5 Мб, 2 Мб, 1Мб, 0,5Мб, 100кб, 50кб, 35кб, 30кб, 20кб, или менее и содержащий ЛКП или его вариант. В одном аспекте, размер части составляет не менее 5кб, 10кб, 20кб или более.

В одном аспекте растение посевного огурца по настоящему изобретению содержит фрагмент интрогрессии из дикого или примитивного огурца, при этом указанный фрагмент интрогрессии содержит ЛКП1.2 или его вариант, отличающийся

тем, что фрагмент интрогрессии содержит всю часть области, начиная с 22,8 Мб и заканчивая на 25,6 Мб физической хромосомы 1.

В одном аспекте фрагмент интрогрессии на хромосоме 1, содержащей ЛКП1.2, или его вариант, можно получить путем скрещивания растения, выращенного из NCIMB43745, с другим растением огурца, в частности, растением посевного огурца, в одном аспекте, длинного огурца, засолочного огурца или салатного огурца.

В одном аспекте, растение посевного огурца по изобретению, содержащее ЛКП1.2, или его вариант, представляет собой растение, отличающееся тем, что указанный фрагмент интрогрессии хромосоме 1 можно получить путем скрещивания растения, выращенного из семян, депонированных под идентификационным номером NCIMB43745, с другим растением огурца. Таким образом, в одном аспекте ЛКП представляет собой ЛКП, присутствующий в семенах, депонированных под идентификационным номером NCIMB43745.

В другом аспекте, растение посевного огурца по изобретению, содержащее ЛКП1.2, или его вариант, представляет собой растение, отличающееся тем, что указанный фрагмент интрогрессии на хромосоме 1 можно получить путем скрещивания растения, содержащего тот же гаплотип ОНП или генотип ОНП для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более маркеров ОНП, связанных с ЛКП (т.е. ОНП_17 - ОНП_31 для ЛКП1.2, как показано в Таблице 2) с другим растением огурца, в частности с элитной селекционной линией посевного огурца. Таким образом, в одном аспекте ЛКП представляет собой ЛКП, присутствующий в образцах диких доноров, которые содержат один и тот же гаплотип или генотип ОНП для, в меньшей степени, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более маркеров ОНП, как, например, те, что встречаются в NCIMB43745. Донор также предпочтительно имеет фенотип резистентности и средний индекс заболеваемости ToLCNDV-ES, по меньшей мере, 7,5, предпочтительно, по меньшей, мере 8,0, 8,1, 8,2, 8,3, 8,4, 8,5, 8,6, 8,7, 8,8, 8,9 или 9,0.

По тексту настоящей заявки под маркерами ОНП, которые указывают на присутствие фрагмента интрогрессии (и ЛКП, который обеспечивает резистентность к ToLCNDV-ES и присутствует на фрагменте интрогрессии), понимается генотип или гаплотип ОНП, который указывает на фрагмент интрогрессии, т.е. генотип или

гаплотип ОНП, как указано, например, в Таблицах 1 – 4. Отмечено, что на основе генотипа ОНП-маркеров можно различать фрагменты интрогрессии, представленные в гомозиготной или гетерозиготной форме. В гомозиготной форме нуклеотид идентичен, а в гетерозиготной форме нуклеотид не идентичен. ОНП-генотип хромосомы «дикого типа» без фрагмента интрогрессии, представляет собой другой гаплотип, например, гаплотип рекуррентного родителя). Соответственно, например, генотип ОНП_17, который указывает на фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКП1.2, представляет собой «СТ» (ЛКП1.2/ ∂m) или «СС» (ЛКП1.2/ЛКП1.2), в то время как генотип ОНП, который указывает на дикий тип/генетический контроль (отсутствует фрагмент интрогрессии), например, представляет собой 'ТТ' ($\partial m/\partial m$). Это также можно записать как генотип СХ' (ЛКП1.2/ ∂m) или 'СС' (ЛКП1.2/ЛКП1.2), в то время как генотип ОНП, указывающий на дикий тип/генетический контроль (отсутствует фрагмент интрогрессии), например, представляет собой 'ХХ' ($\partial m/\partial m$). Х может представлять собой любой нуклеотид (А, Т, С или G). Таким образом, когда речь идет о растении или части растения (например, клетке), содержащей фрагмент интрогрессии в гомозиготной или гетерозиготной форме, подразумевается, что маркеры ОНП, связанные с фрагментом интрогрессии, имеют соответствующий генотип или гаплотип ОНП.

Соответственно, в одном аспекте предусмотрено посевное растение *Cucumis sativus* сорт sativus, содержащее фрагмент интрогрессии хромосомы 1 в гомозиготной или гетерозиготной форме, причем указанный фрагмент интрогрессии обеспечивает увеличение резистентности к ToLCNDV-ES по сравнению с растением огурца, лишенным фрагмента интрогрессии на хромосоме 1, например, генетическим контрольным сортом или контрольным сортом при выращивании в аналогичных условиях.

Повышение резистентности к ToLCNDV-ES фенотипически выражается в виде более высокого среднего индекса заболеваемости (меньшее пожелтение, измеренное, например, по результатам анализа заболеваемости, как описано в настоящей заявке) линии или сорта растений посевного огурца, содержащих фрагмент интрогрессии на хромосоме 1 в гомозиготной или гетерозиготной форме по сравнению с генетической контрольной линией или сортом, лишенным фрагмента интрогрессии на хромосоме 1

при выращивании в той же среде. Средний индекс заболеваемости предпочтительно возрастает, по меньшей мере, на 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0 или более баллов по шкале заболеваемости с 2,0 (для 90-100% площади листьев характерны симптомы мозаики пожелтения) до 9,0 (отсутствие симптомов). Так, например, если ЛКП1.2 вводится в восприимчивую линию или сорт огурца, имеющий средний индекс заболеваемости порядка 4,0, введение ЛКП1.2 предпочтительно повышает средний индекс заболеваемости в среднем до, по меньшей мере, 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0 или более. Поскольку было установлено, что ЛКП1.2 является аддитивным, эффект ЛКП1.2 в гетерозиготной форме меньше, чем эффект в гомозиготной форме. Таким образом, влияние на резистентность к ToLCNDV-ES предпочтительно измеряют, когда он представлен в гомозиготной форме.

Известно, что все четыре ЛКП вместе в гомозиготной форме (ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1) дают средний индекс заболеваемости на уровне 9,0 при введении в восприимчивое растение, имеющее средний индекс заболеваемости порядка 4,0 – 5,0. Влияние отдельных ЛКП, даже в гомозиготной форме, будет меньше, чем комбинированный эффект, но все равно будет проявляться в плане снижения симптомов ToLCNDV-ES. Влияние одного ЛКП1.2 определяется путем введения одного ЛКП в восприимчивое растение огурца в гетерозиготной или предпочтительно в гомозиготной форме. Например, NCIMB43745 можно скрестить с восприимчивым растением, а в восприимчивый фон можно перенести один только ЛКП1.2.

Таким образом, растения по изобретению содержат геном посевного огурца, по меньшей мере, с одной или двумя рекомбинантными хромосомами, а именно с одной или двумя рекомбинантными хромосомами 1 (т.е. гетерозиготной или гомозиготной). Рекомбинантные хромосомы содержат фрагмент дикого огурца-донора, который легко отличить от генома посевного огурца с помощью анализа молекулярных маркеров, полногеномного секвенирования, окраски хромосом и аналогичных методов.

В одном аспекте, фрагмент интрогрессии на хромосоме 1 от дикого или примитивного огурца, содержит ToLCNDV-ES ЛКП1.2, или его вариант, и включает всю или часть участка, начинающегося на нуклеотиде ОНП_17 и заканчивающегося

на ОНП_31. Таким образом, фрагмент интрогрессии содержит ЛКП1.2 или его вариант и один или более, или все (например, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15) маркеры ОНП дикого донора, выбранные из ОНП_17 – ОНП_31, как указано в Таблице 2.

В одном аспекте, фрагмент интрогрессии содержит ЛКП1.2 и одну или более, или все SEQ ID NO: 17 - SEQ ID NO: 31.

В одном аспекте, присутствие фрагмента интрогрессии на хромосоме 1, содержащей ЛКП1.2 в геноме растения, или клетке растения, или ткани растения (или в ДНК, извлеченной из него) обнаруживается с помощью анализа молекулярных маркеров, который позволяет обнаружить один или более молекулярных маркеров фрагмента интрогрессии, особенно гаплотип или генотип ОНП донора для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более ОНП_17 - ОНП_31, на нуклеотиде 51 от SEQ ID NO: 17 до 31, соответственно. Однако, как уже указывалось ранее, могут быть использованы и другие методы, например, генотип ОНП маркеров также может определяться путем секвенирования или с использованием альтернативных маркеров, расположенных в промежуточном положении маркеров ОНП, предусмотренных по тексту настоящей заявки, или в пределах 7 сМ, или в пределах 5 сМ от маркера, предусмотренного настоящей заявкой; или в пределах 5 Мб, 3 Мб, 2,5 Мб, 2 Мб, 1 Мб, 0,5 Мб, 0,4 Мб, 0,3 Мб, 0,2 Мб, 0,1 Мб, 50 Кб, 20 Кб, 10 Кб, 5 Кб, 2 Кб, 1 Кб или менее от маркера, предусмотренного настоящей заявкой.

В одном аспекте, присутствие фрагмента интрогрессии на хромосоме 1, содержащей ЛКП1.2 в геноме растения, или клетке растения, или ткани растения (или в ДНК, извлеченной из него) можно обнаружить путем обнаружения присутствия одной или более или всех последовательностей SEQ ID NO: 17 – SEQ ID NO: 31.

Ссылка по тексту настоящей заявки на один или более молекулярных маркеров или последовательностей, которые «обнаруживаются», например, посредством анализа молекулярных маркеров, во всех случаях означает, что растение или часть растения содержит один или более маркеров или последовательностей в своем геноме, поскольку в противном случае маркер или последовательность не были бы обнаружены.

Растения огурца, содержащие фрагмент интрогрессии на хромосоме 1 (ЛКП 1.2) или его вариант

В одном аспекте, культурное растение *Cucumis sativus* сорт *sativus*, содержащее фрагмент интрогрессии дикого или примитивного огурца на хромосоме 1 в гомозиготной или гетерозиготной форме, при этом указанный фрагмент интрогрессии включает в себя локус количественного признака (ЛКП), расположенный между маркером однонуклеотидного полиморфизма ОНП_17 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 17 (или на нуклеотиде 51 варианта SEQ ID NO: 17) и маркером однонуклеотидного полиморфизма ОНП_31 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 31 (или на нуклеотиде 51 варианта SEQ ID NO: 31), при этом данный ЛКП обеспечивает повышение резистентности к ToLCNDV-ES. В одном аспекте, ЛКП расположен между основанием 22942981 (ОНП_17) и основанием 25543032 (ОНП_31) хромосомы 1.

Таким образом, в одном аспекте ЛКП1.2 (или его вариант) расположен в области между ОНП_17 в SEQ ID NO: 1 (или ее вариантом) и ОНП_31 в SEQ ID NO: 31 (или ее вариантом).

Таким образом, в одном аспекте предусмотрено посевное растение *Cucumis sativus* сорт *sativus*, содержащее фрагмент интрогрессии на хромосоме 1 в гомозиготной или гетерозиготной форме, причем указанный фрагмент интрогрессии обеспечивает повышение резистентности к ToLCNDV-ES (по сравнению с растением, лишенным фрагмента интрогрессии, например генетическим контрольным сортом), и причем указанный фрагмент интрогрессии включает в себя гаплотип маркера ОНП или генотип не менее 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 маркеров ОНП, выбранных из группы, состоящей из:

- a) СХ или СС генотип для маркера ОНП_17 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 17 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- b) GX или GG генотип для маркера ОНП_18 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 18 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- c) GX или GG генотип для маркера ОНП_19 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 19 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);

- d) TX или TT генотип для маркера ОНП_20 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 20 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- e) GX или GG генотип для маркера ОНП_21 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 21 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- f) GX или GG генотип для маркера ОНП_22 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 22 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- g) TX или TT генотип для маркера ОНП_23 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 23 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- h) CX или CC генотип для маркера ОНП_24 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 24 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- i) AX или AA генотип для маркера ОНП_25 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 25 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- j) CX или CC генотип для маркера ОНП_26 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 26 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- k) CX или CC генотип для маркера ОНП_27 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 27 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- l) CX или CC генотип для маркера ОНП_28 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 28 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- m) CX или CC генотип для маркера ОНП_29 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 29 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- n) AX или AA генотип для маркера ОНП_30 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 30 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- o) GX или GG генотип для маркера ОНП_31 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 31 (или на нуклеотиде 51 в его варианте).

При указании ОНП в альтернативной последовательности данная вариантная последовательность, по меньшей мере, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична указанной последовательности. X обозначает любой нуклеотид последовательности

на другой хромосоме 1 пары хромосом. В одном аспекте X может быть нуклеотидом рекуррентного родителя, как описано в Таблице 2.

В одном аспекте, указанные, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 маркеров являются последовательными маркерами.

Фрагмент, содержащий ЛКП1.2, таким образом, может быть большим (содержать ОНП_17 - ОНП_31), а может быть меньшим и не содержать маркеров, имеющих генотип или гаплотип дикого огурца (т.е. маркеры вместо этого имеют генотип или гаплотип посевного огурца, см. также таблицу 2, ОНП-гаплотип рекуррентного родителя), при этом он все же может обеспечивать повышенную резистентность растения посевного огурца к ToLCNDV-ES, т.е. он все еще может содержать аллель ToLCNDV-ES (ЛКП1.2 или вариант). Такие меньшие фрагменты интрогрессии представляют собой вариант осуществления изобретения. Растения, имеющие меньшие фрагменты интрогрессии, которые тем не менее обеспечивают повышение резистентности к ToLCNDV-ES (т.е. содержат аллель резистентности), могут быть получены с использованием известных методов, таких как точное картирование или аналогичные методы. Например, начиная с растения, содержащего фрагмент интрогрессии, обнаруженный в семенах, депонированных под идентификационным номером NCIMB 43745, и скрещивая такое растение с другим растением посевного огурца и самоопыляя потомство от указанного скрещивания, и/или проводя обратное скрещивание потомства с тем, чтобы получить популяцию растений, которые могут содержать рекомбинанты, имеющие меньший фрагмент интрогрессии на хромосоме 1, при этом указанные фрагменты, тем не менее, обеспечивают повышенную резистентность к ToLCNDV-ES по сравнению с растением, которое не содержит фрагмент интрогрессии (такого как генетический контрольный сорт, например, растения, выращенные из семян, депонированных под номером NCIMB42344), например фрагмент, содержащий маркеры ОНП_17 - ОНП_22, или ОНП_22 - ОНП_27 или ОНП_27 - ОНП_31 или ОНП_20 - ОНП_29. Для определения размера меньшего фрагмента интрогрессии можно использовать метод маркерного анализа. Могут отсутствовать один или более маркеров ОНП с генотипом или гаплотипом дикого огурца-донора. После этого по указанным маркерам ОНП определяют генотип или гаплотип посевного огурца. Резистентность к ToLCNDV-ES

растений, содержащих указанный меньший фрагмент интрогрессии, затем можно сравнить с помощью анализа заболеваемости, как описано по тексту настоящей заявки, т.е. путем выращивания множества растений, содержащих меньший фрагмент интрогрессии, в экспериментах вместе с подходящими контрольными растениями, которые не содержат фрагмент интрогрессии. Контрольные растения предпочтительно представляют собой генетические контрольные сорта, такие как NCIMB43744. Если средний индекс заболеваемости ToLCNDV-ES остается существенно выше, чем в случае с контрольным сортом, то меньший фрагмент интрогрессии сохранил ЛКП1.2.

В некоторых случаях, тот же ЛКП или его вариант (ЛКП1.2 или вариант ЛКП1.2) может быть интрогрессирован из разных образцов дикого донора, при этом в некоторых случаях могут присутствовать не все маркеры ОНП, предусмотренные по тексту настоящей заявки, т.е. гаплотип ОНП донорского образца может быть только идентичен гаплотипу ОНП ЛКП1.2, присутствующему в семенах NCIMB43745 для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более ОНП. Такие альтернативные доноры дикого огурца можно идентифицировать с использованием маркеров ОНП, предусмотренных настоящей заявкой, путем скрининга зародышевой плазмы (т.е. образцов) дикого или примитивного огурца с использованием маркерного анализа для обнаружения генотипа или гаплотипа одного или более маркеров ОНП_17 - ОНП_31, или маркеров ОНП_17 - ОНП_22, ОНП_22 - ОНП_27, ОНП_27 - ОНП_31 или ОНП_20 - ОНП_29, или даже только меньшей подгруппы указанных маркеров (например, 2, 3 или 4). Например, в Таблице 2 представлены различные доноры (PI605996, CGN22263 и CGN22932, также известные как PI197087), которые имеют одинаковый гаплотип ОНП для ОНП_17 - ОНП_31. Таким же образом могут быть идентифицированы и другие доноры, содержащие ЛКП1.2 или его вариант. Растения, содержащие ЛКП1.2 или его вариант от указанных доноров или получившие его из других источников, также представляют собой вариант осуществления изобретения. Таким образом, при условии, что хотя бы 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более (или все) ОНП ОНП_17 - ОНП_31, или SNP ОНП_17 - ОНП_22, или SNP ОНП_22 - ОНП_27, или ОНП_27-ОНП_31 или ОНП_20-ОНП_29 присутствуют, донор может содержать ЛКП1.2 (или его вариант) и охватывается настоящей заявкой. Затем специалист в данной области может

выполнить интрогрессию ЛКП1.2 (или его варианта) в посевной огурец с тем, чтобы повысить резистентность к ToLCNDV-ES, как описано по тексту настоящей заявки, и подтвердить, что ЛКП повышает резистентность к ToLCNDV-ES, если он присутствует в посевном огурце. Перед интрогрессией дикий донор также может быть проверен на резистентность к ToLCNDV-ES в рамках анализа, как описано выше, и, например, может быть выбран донор, имеющий средний индекс заболеваемости ToLCNDV-ES, например, по меньшей мере, 7,5, 8,0, 8,5 или 9,0.

Как указано выше, в одном варианте осуществления растение посевного огурца по настоящему изобретению содержит фрагмент интрогрессии, содержащий, по меньшей мере, подмножество ОНП-маркеров с генотипом (или гаплотипом) дикого огурца-донора, т.е. не менее 5, 6, 7, 8, 9 или более маркеров ОНП_17 - ОНП_31, или не менее 3 маркеров ОНП_17 - ОНП_22, или ОНП_22 - ОНП_27, или ОНП_27 - ОНП_31, или ОНП_20 - ОНП_29. В одном аспекте растение посевного огурца содержит все или все, кроме 1 или 2 маркеров ОНП_17 - ОНП_31, или ОНП_17 - ОНП_22, или ОНП_22 - ОНП_27, или ОНП_27 - ОНП_31, или ОНП_20 - ОНП_29.

Таким образом, фрагмент интрогрессии (и растения или части растения посевного огурца, например, клетки, содержащей фрагмент интрогрессии) можно обнаружить в рамках маркерного анализа путем обнаружения генотипа ОНП или гаплотипа фрагмента интрогрессии (т.е. зародышевой плазмы дикого огурца) одного, нескольких или всех вышеуказанных маркеров, предпочтительно, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8 или более.

Таким образом, в одном аспекте было установлено, что локус количественного признака (ЛКП1.2) присутствует на хромосоме 1 донора дикого огурца, который при переносе (интрогрессии) в сорт или селекционную линию посевного огурца, а также при присутствии в гетерозиготной или гомозиготной форме, значительно повышает резистентность растения посевного огурца к ToLCNDV-ES. ЛКП, или фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКП (содержащий аллель резистентности к ToLCNDV), является, таким образом, аддитивным, т.е. достаточно иметь фрагмент интрогрессии на одной из хромосом 1 (одной рекомбинантной хромосоме 1), при этом гомологичная

хромосома 1 пары может быть (нерекомбинантной) хромосомой 1 посевного *C. sativus* сорт *sativus*, у которого отсутствует фрагмент интрогрессии.

Несмотря на то, что текущий источник ЛКП1.2, который использовался для картирования и интрогрессии ЛКП, является единственным специфическим диким источником, существуют и другие дикие образцы, которые содержат ЛКП1.2 в том же локусе на хромосоме 1. Например, было установлено, что дикие образцы PI605996, CGN22263 и CGN22932 (также известные как PI197087) содержат один и тот же гаплотип ОНП для маркеров ОНП_17 - ОНП_31 (как показано в Таблице 2) и демонстрируют резистентность к ToLCNDV-ES. Таким образом, (вариант) ЛКП1.2 от указанных или иных доноров может быть интрогрессирован в посевной огурец, в некоторых случаях в комбинации с ЛКП1.1, ЛКП2.1 и ЛКП3.1 или их комбинациями. Аналогично, другие образцы диких или примитивных огурцов могут быть проверены на наличие гаплотипа ОНП или генотипа одного, нескольких или всех ОНП_17 - ОНП_31.

Такие другие доноры могут содержать аллель резистентности к ToLCNDV-ES, который имеет немного другие нуклеотидные последовательности, т.е. варианты аллеля (ЛКП1.2), предусмотренные по тексту настоящей заявки. Такие варианты ЛКП также можно идентифицировать и интрогрессировать в посевной огурец, как описано по тексту настоящей заявки, для получения растения посевного огурца, содержащего геном посевного огурца *C. sativus* сорт *sativus* и рекомбинантную хромосому 1, отличающегося тем, что рекомбинантная хромосома 1 содержит фрагмент интрогрессии, который обеспечивает повышенную резистентность растения посевного огурца к ToLCNDV-ES, когда он представлен в гомозиготной или гетерозиготной форме. Для того, чтобы идентифицировать указанные образцы диких доноров, содержащих ЛКП1.2, можно провести скрининг диких образцов, например, путем анализа маркеров или сравнения последовательностей или других методов на наличие одного или более ОНП-маркеров, предусмотренных настоящей заявкой. Предполагаемый ЛКП (или вариант ЛКП) затем может быть интрогрессирован в посевной огурец, например, с использованием MAS, т.е. с использованием одного или более (или всех) ОНП-маркеров, предусмотренных настоящей заявкой, для обнаружения и/или селекции растений-потомков (например, растений обратного

скрещивания), содержащих рекомбинантную хромосому 1. Прошедшие селекцию растения, т.е. растения посевного огурца, содержащие фрагмент интрогрессии хромосомы 1, отличающиеся тем, что фрагмент интрогрессии хромосомы 1 выявляется с помощью 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более ОНП-маркеров ОНП_17 - ОНП_31, которые затем могут быть фенотипированы в рамках анализа заболеваемости ToLCNDV-ES вместе с подходящими контрольными растениями, предпочтительно, по меньшей мере, с генетическими контрольными растениями для того, чтобы определить, действительно ли фрагмент интрогрессии вызывает значительное увеличение резистентности к ToLCNDV-ES.

Образцы дикого или примитивного огурца можно получить, например, из коллекции семян Национальной системы зародышевой плазмы растений Министерства сельского хозяйства США или других коллекций семян, и, таким образом, их можно проверить на наличие ЛКП1.2, используя, например, маркерный анализ, как описано в настоящем документе, и образцы, содержащие 5 или более маркеров ОНП (например, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более маркеров ОНП, указывающих на ЛКП1.2 или его вариант), можно скрещивать с растением посевного огурца, содержащим нормальные нереккомбинантные хромосомы 1 дикого типа. Поколение F1 или F2 (или дальнейшее поколение, такое как поколение F3 или поколение обратного скрещивания) может затем подвергаться скринингу на наличие рекомбинантных растений, содержащих фрагмент интрогрессии или его часть, с использованием анализа молекулярных маркеров, описанных по тексту настоящей заявки.

В одном аспекте, фрагмент интрогрессии получен от донора, содержащего гаплотип ОНП для ЛКП1.2, как указано в Таблице 2 для интрогрессионного донора (NCIMB43745), PI605996, CGN22263 или CGN22932, также именуемого PI197087.

В конкретном варианте осуществления фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКП1.2 (или его вариант) для ToLCNDV-ES, может быть получен из или выведен из или сформирован из; или присутствует в) семян(-ах), репрезентативный образец которых был депонирован под идентификационным номером NCIMB 43745, или из его потомства, или из семян, имеющих идентификационный номер PI605996

(коллекция USDA ARS-GRIN), или из семян, имеющих идентификационный номер CGN22263 или CGN22932 (коллекция Wageningen CGN), или из семян, имеющих идентификационный номер PI197087 (USDA) коллекции ARS-GRIN) или от потомков любого из них. Потомство может представлять собой любое потомство, которое сохраняет маркеры ОНП или гаплотип, указывающий на ЛКП (и связанный с ним), как указано в тексте. Таким образом, потомство не ограничивается потомством F1 или F2 депозита или образца, но может представлять собой любое потомство, независимо от того, получено ли оно путем самоопыления и/или скрещивания с другим растением огурца.

В одном варианте осуществления фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКП1.2 (или вариант), можно идентифицировать с помощью одного или нескольких маркеров, описанных в других разделах настоящей заявки, особенно маркеров ОНП_17 - ОНП_31 для фрагмента интрогрессии на хромосоме 1 или подмножества маркеров, таких как один или несколько маркеров, выбранных из маркеров ОНП_17 - ОНП_22, или ОНП_22 - ОНП_27, или ОНП_27 - ОНП_31, или ОНП_20 - ОНП_29. В одном аспекте изобретение относится к растению посевного огурца, имеющему геном посевного (одомашненного) огурца, который обладает повышенной резистентностью к ToLCNDV-ES, при этом повышенная резистентность обеспечивается за счет фрагмента интрогрессии на хромосоме 1 посевного огурца, причем указанный фрагмент интрогрессии получают путем скрещивания культурного растения, выращенного из семян, депонированных под номером NCIMB 43745, или потомства такого растения (которое содержит один или несколько описываемых по тексту настоящей заявки маркеров, связанных с ЛКП) с растением посевного огурца. Таким образом, в одном аспекте растение посевного огурца по настоящему изобретению содержит тот же фрагмент интрогрессии и ту же рекомбинантную хромосому 1, что и представленные в NCIMB 43745 (содержащий весь гаплотип дикого донора для ОНП-маркеров ОНП_17 - ОНП_31 или содержащий SEQ ID NO: от 17 до 31), или содержит более короткий фрагмент указанного фрагмента интрогрессии, отличающегося тем, что короткий фрагмент сохраняет генетический элемент, придающий резистентность к ToLCNDV-ES (ЛКП1.2).

Таким образом, в одном аспекте изобретение относится к растению по изобретению, т.е. посевному *Cucumis sativus* сорт *sativus*, содержащему фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКП1.2 из дикого огурца на хромосоме 1 в гомозиготной или гетерозиготной форме, причем указанный фрагмент интрогрессии представляет собой фрагмент интрогрессии «как в» / «идентичный» / «такой же, как в» семенах, депонированных под номером NCIMB 43745, или является его более коротким фрагментом, но при этом также придает повышенную резистентность к ToLCNDV-ES благодаря присутствию ЛКП1.2.

Поскольку SEQ ID NO: 17-31 принадлежат дикому донору, использованному для получения NCIMB43745, они могут использоваться для идентификации фрагмента интрогрессии или субфрагментов конкретного донора.

В еще одном варианте изобретение относится к растению по изобретению, т.е. растению посевного огурца *Cucumis sativus* сорт *sativus*, содержащее фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКП1.2 дикого огурца на хромосоме 1 в гомозиготной или гетерозиготной форме, причем указанный фрагмент интрогрессии является фрагментом интрогрессии, который представляет собой вариант фрагмента интрогрессии семян, депонированных под номером NCIMB 43745, т.е. содержит ЛКП1.2, при этом геномная последовательность может быть другой. Поскольку дикие образцы будут генетически дивергентными, геномная последовательность фрагмента интрогрессии, содержащего ЛКП1.2 из других диких или примитивных огурцов, скорее всего, не будет идентична геномной последовательности, интрогрессированной в NCIMB 43745, и даже ген, передающий резистентность к ToLCNDV-ES (включая промоторы, интроны и экзоны) может отличаться по нуклеотидной последовательности, при этом функция будет той же, т.е. обеспечение повышенной резистентности. Расхождение проявляется в том, что некоторые маркеры ОНП, связанные с ЛКП1.2, обычно встречаются в различных образцах, в то время как другие маркеры ОНП могут быть обнаружены только в определенных образцах. Так, например, не все ОНП_17 – ОНП_31 можно обнаружить у других доноров дикого огурца. Например, образец может иметь немного отличающийся гаплотип ОНП для ОНП_17 - ОНП_31, с одним или двумя маркерами ОНП, имеющими разные нуклеотиды. При этом ЛКП1.2 (содержащий, например, вариант или ортолог аллеля

резистентности к ToLCNDV-ES) по-прежнему может присутствовать в таких диких образцах. Специалист в данной области способен идентифицировать и выполнить интрогрессию области, содержащей ЛКП1.2, встречающуюся у других доноров дикого огурца, в посевной огурец, например, путем обнаружения диких образцов, содержащих маркеры ОНП или их подмножество, и переноса таких маркеров ОНП (или подмножества) в линию или сорт посевного огурца, и выполнив оценку резистентности культивируемой линии или сорта к ToLCNDV-ES по сравнению с линией или сортом, не имеющими маркеров ОНП (или их подмножества), т.е. линией или сортом, у которых отсутствует фрагмент интрогрессии. Даже в тех случаях, когда гаплотип ОНП для ОНП_17 - ОНП_31 идентичен гаплотипу ОНП ЛКП1.2, встречающемуся в семенах NCIMB 43745, фактические нуклеотидные последовательности, фланкирующие ОНП на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 17 – 31 у других доноров могут отличаться. Таким образом, другие доноры могут содержать тот же нуклеотид ОНП на нуклеотиде 51, но в последовательности, которая, по меньшей мере, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности SEQ ID NO: 17 – 31, в случае, например, попарного выравнивания. Данную вариацию можно увидеть путем секвенирования доноров и выравнивания последовательностей SEQ ID NO: 17 – SEQ ID NO: 31 с указанной последовательностью.

В одном варианте осуществления наличие фрагмента интрогрессии, содержащей ЛКП1.2, или область хромосомы 1 (вариант или ортологическую область хромосомы 1), содержащей ЛКП1.2, обнаруживается с помощью анализа молекулярных маркеров, который позволяет выявить, по меньшей мере, 5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 маркеров однонуклеотидного полиморфизма (ОНП), выбранных из группы, состоящей из:

- a) СХ или СС генотип для маркера ОНП_17 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 17 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- b) GX или GG генотип для маркера ОНП_18 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 18 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- c) GX или GG генотип для маркера ОНП_19 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 19 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);

- d) TX или TT генотип для маркера ОНП_20 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 20 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- e) GX или GG генотип для маркера ОНП_21 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 21 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- f) GX или GG генотип для маркера ОНП_22 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 22 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- g) TX или TT генотип для маркера ОНП_23 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 23 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- h) CX или CC генотип для маркера ОНП_24 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 24 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- i) AX или AA генотип для маркера ОНП_25 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 25 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- j) CX или CC генотип для маркера ОНП_26 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 26 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- k) CX или CC генотип для маркера ОНП_27 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 27 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- l) CX или CC генотип для маркера ОНП_28 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 28 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- m) CX или CC генотип для маркера ОНП_29 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 29 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- n) AX или AA генотип для маркера ОНП_30 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 30 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- o) GX или GG генотип для маркера ОНП_31 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 31 (или на нуклеотиде 51 в его варианте).

В одном аспекте, указанные, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 маркеров, которые выявлены, являются последовательными маркерами.

Таким образом, в одном варианте осуществления растения согласно изобретению содержат, по меньшей мере, Цитозин (C) (т.е. CC или CX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 17 (именуемый ОНП_17) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:17 (другими словами, это Цитозин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 2);

и/или, по меньшей мере, Гуанин (G) (т.е. GG или GX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 18 (именуемый ОНП_18) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:18 (другими словами, это Гуанин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 2);

и/или, по меньшей мере, Гуанин (G) (т.е. GG или GX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 19 (именуемый ОНП_19) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:19 (другими словами, это Гуанин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 2);

и/или, по меньшей мере, Тиамин (T) (т.е. TT или TX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 20 (именуемый ОНП_20) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:20 (другими словами, это Тиамин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 2);

и/или, по меньшей мере, Гуанин (G) (т.е. GG или GX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 21 (именуемый ОНП_21) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:21 (другими словами, это Гуанин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 2);

и/или, по меньшей мере, Гуанин (G) (т.е. GG или GX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 22 (именуемый ОНП_22) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности

последовательности с SEQ ID NO:22 (другими словами, это Гуанин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 2);

и/или, по меньшей мере, Тиамин (Т) (т.е. ТТ или ТХ генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 23 (именуемый ОНП_23) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:23 (другими словами, это Тиамин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 2);

и/или, по меньшей мере, Цитозин (С) (т.е. СС или СХ генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 24 (именуемый ОНП_24) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:24 (другими словами, это Цитозин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 2);

и/или, по меньшей мере, Аденин (А) (т.е. АА или АХ генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 25 (именуемый ОНП_25) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:25 (другими словами, это Аденин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 2);

и/или, по меньшей мере, Цитозин (С) (т.е. СС или СХ генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 26 (именуемый ОНП_26) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:26 (другими словами, это Цитозин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 2);

и/или, по меньшей мере, Цитозин (С) (т.е. СС или СХ генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 27 (именуемый ОНП_27) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:27 (другими словами, это Цитозин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 2);

и/или, по меньшей мере, Цитозин (С) (т.е. СС или СХ генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 28 (именуемый ОНП_28) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности

последовательности с SEQ ID NO:28 (другими словами, это Цитозин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 2);

и/или, по меньшей мере, Цитозин (C) (т.е. CC или CX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 29 (именуемый ОНП_29) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:29 (другими словами, это Цитозин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 2);

и/или, по меньшей мере, Аденин (A) (т.е. AA или AX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 30 (именуемый ОНП_30) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:30 (другими словами, это Аденин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 2);

и/или, по меньшей мере, Гуанин (G) (т.е. GG или GX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 31 (именуемый ОНП_31) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:31 (другими словами, это Гуанин в физическом положении хромосомы 1, показанном в Таблице 2).

В еще одном варианте осуществления наличие фрагмента интрогрессии или области хромосомы 1 (или варианта или ортологической области хромосомы 1), содержащей ЛКП1.2, можно обнаружить с помощью анализа молекулярных маркеров, который выявляет, по меньшей мере, 3, 4 или 5 маркеров однонуклеотидного полиморфизма (ОНП) в составе подгрупп, состоящих из: ОНП_17 - ОНП_22; ОНП_22 - ОНП_27; ОНП_27 - ОНП_31; или ОНП_20 - ОНП_29.

Генотип ОНП обозначает два нуклеотида и геномные последовательности, содержащие один из этих двух нуклеотидов, по одному на каждой хромосоме 1. Так, растение, имеющее генотип CC по ОНП_17, имеет идентичный нуклеотид (C) на обеих хромосомах (т.е. является гомозиготным), а растение, имеющее генотип CX по ОНП_17, имеет одну хромосому с C на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 17 (или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:17) и одну хромосому X на

нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 17 (или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:17) и является гетерозиготным, при этом X может представлять собой любой нуклеотид. Поскольку геномные последовательности вокруг маркеров ОНП, указанные по тексту настоящей заявки, могут незначительно отличаться во фрагментах интрогрессии от других доноров дикого огурца (т.е. варианты или ортологичные области хромосомы 1), очевидно, что нуклеотидные последовательности до и после ОНП не могут быть на 100% идентичны последовательностям, представленным в настоящей заявке. Таким образом, настоящей заявкой предусмотрены последовательности, которые в значительной степени идентичны (т.е., по меньшей мере, на 95%) последовательностям, предусмотренным настоящей заявкой, и при этом содержат ОНП.

В одном аспекте фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКП1.2 или область хромосомы 1 (или вариант или ортологическую область хромосомы 1), содержащую ЛКП (ЛКП1.2 или вариант), который выявляется с помощью одного или более указанных выше маркеров, от дикого или примитивного огурца, и в одном аспекте дикий или примитивный огурец относится к индийской группе огурцов. В одном аспекте это тот же фрагмент интрогрессии, который обнаружен на хромосоме 1 в семенах, депонированных под идентификационным номером NCIMB 43745, или меньший фрагмент, сохраняющий ЛКП. Маркеры ОНП ОНП_17 – ОНП_31 охватывают область размером порядка 2,6 Мб. В одном аспекте размер фрагмента интрогрессии хромосомы 1 не превышает 2,7 Мб, предпочтительно не превышает 2,6 Мб, более предпочтительно не превышает 2,5, 2,4, 2,3, 2,2, 2,0, 1,9, 1,8, 1,7, 1,6, 1,5 Мб по размеру, например, не превышает 1,0 Мб. В одном аспекте фрагмент интрогрессии имеет размер не менее 0,2 Мб, 0,5 Мб, 1,0 Мб, 1,5 Мб, 1,9 Мб, 2,0 Мб, 2,5 Мб, 2,7 Мб или 3 Мб. Таким образом, в настоящую заявку включены различные диапазоны размеров интрогрессии, такие как фрагменты размером менее 2,7 Мб, но более 0,2 Мб, менее 2,0 Мб или 1,5 Мб, но более 0,2 Мб, 0,5 Мб или 1 Мб и т.д., которые содержат ЛКП1.2 и один или несколько маркеров ОНП ОНП_17 - ОНП_31 или подгрупп ОНП_17 - ОНП_22; ОНП_22 - ОНП_27; ОНП_27 - ОНП_31 или ОНП_20 - ОНП_29. Как указывалось выше, местоположение ЛКП1.2 в области, охватывающей ОНП_17 -

ОНП_31, может быть определено с помощью точного картирования и рекомбинантов, содержащих ЛКП1.2 на меньшем фрагменте интрогрессии. Размер фрагмента интрогрессии можно без труда определить, например, путем полногеномного секвенирования или секвенирования следующего поколения, как, например, описано в работе *Qi et al. 2013 (см. выше)* или в *Huang et al. 2009 г. (см. выше)*. Области интрогрессии особенно легко можно отличить от культивируемых геномных областей из-за большего количества генетических вариаций (ОНП, вставок/делеций и т.д.) в области интрогрессии.

Для получения фрагмента интрогрессии на хромосоме 1 (содержащего ЛКП1.2) из депонированных семян (NCIMB43745), т.е. для переноса фрагмента интрогрессии, содержащего ЛКП, в другое растение посевного огурца, растение выращивают из семени и скрещивают с растением посевного огурца для получения семян F1. Поскольку NCIMB43745 содержит две рекомбинантные хромосомы 1 (включающие в себя фрагмент интрогрессии), все семена F1 и растения, выращенные из них, содержат одну рекомбинантную хромосому 1 от родителя NCIMB43745 и одну нерекомбинантную хромосому 1 от другого культивируемого родителя. Таким образом, путем традиционной селекции можно перенести рекомбинантную хромосому 1 из NCIMB43745 в другие культивируемые линии или сорта огурца. Растения, которые содержат ЛКП1.2, можно подвергать скринингу и селекции по наличию одного или более вышеуказанных ОНП-маркеров с тем, чтобы идентифицировать растения, содержащие рекомбинантную хромосому 1.

Для получения более коротких фрагментов интрогрессии (содержащий ЛКП1.2) должен произойти мейоз и должны быть идентифицированы растения, содержащие рекомбинантные хромосомы 1, и особенно новые события мейотической рекомбинации внутри фрагмента интрогрессии. Например, семена NCIMB43745 могут один или более раз подвергаться самоопылению для получения растений F1, F2 или F3 (или дальнейших самоопыляющихся поколений), и/или растений F1, F2 или F3 (и т.д.), содержащие рекомбинантную хромосому 1 и скрещиваться с культурным родителем. Растения, которые содержат рекомбинантную хромосому 1, можно подвергать скринингу и селекции на предмет наличия одного или более из вышеуказанных ОНП-маркеров, что позволит идентифицировать растения,

содержащие меньший фрагмент интрогрессии. Такие новые рекомбинанты затем можно тестировать на наличие ЛКП1.2 на меньшем фрагменте интрогрессии путем определения среднего индекса заболеваемости в анализе заболеваемости ToLCNDV-ES по сравнению с (генетическим) контрольным растением, лишенным фрагмента интрогрессии.

Аналогичным образом, растения посевного огурца, содержащие ЛКП1.2 (или его вариант), могут быть получены и/или идентифицированы с использованием различных методов. Например, чтобы получить растение посевного огурца, содержащее фрагмент интрогрессии от дикого донора, идентифицируют дикого донора, который содержит один или более ОНП-маркеров, связанных с ЛКП1.2, указанных по тексту настоящей заявки, например, один, или более, или все маркеры, указанные выше по тексту настоящей заявки. Это, например, было сделано для различных диких образцов, см. раздел «Примеры». Идентифицированное растение скрещивают с растением посевного огурца для получения семян F1. Из F1 можно самоопылением получить растения F2, F3 и т.д. и/или растения F2 или растения F3, и т.д., а также выполнять обратное скрещивание с родительским посевным огурцом. Растения, которые содержат ЛКП1.2 (или его вариант), могут подвергаться скринингу и/или селекции по наличию одного или более из указанных выше ОНП-маркеров и/или подвергаться скринингу и/или селекции по фенотипу повышенной резистентности к ToLCNDV-ES по сравнению с исходным культивируемым родителем (без интрогрессий). В некоторых случаях или в дополнение может выполняться картирование ЛКП для идентификации дополнительных молекулярных маркеров, связанных с ЛКП1.2 (или его вариантом) и/или получения растений посевного огурца, содержащих фрагмент интрогрессии на хромосоме 1, который в значительной степени повышает резистентность к ToLCNDV-ES.

В одном варианте осуществления наличие фрагмента интрогрессии в растении посевного огурца или области хромосомы 1 (или ортологической области хромосомы 1), содержащей ЛКП1.2, можно обнаружить с помощью анализа молекулярных маркеров, который позволяет установить, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более маркеров, выбранных из группы, состоящей из:

- a) CC или CX генотип для маркера ОНП_17 Однонуклеотидного Полиморфизма в SEQ ID NO: 17 (или в его варианте);
- b) GG или GX генотип для маркера ОНП_31 Однонуклеотидного Полиморфизма в SEQ ID NO: 31 (или в его варианте);
- c) любой маркер, специфичный для генома дикого огурца, в положении между маркером ОНП_17 и ОНП_31.

В одном аспекте, маркеры, указанные в подпункте c), представляют собой один или более ОНП_18 - ОНП_30. В одном аспекте, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более маркеров обнаруживаются из указанных выше маркеров a), b) и/или c). В одном варианте осуществления обнаруживается, по меньшей мере, маркер a) и/или b) и в некоторых случаях, по меньшей мере, один, два, три или более маркеров c). В одном аспекте, обнаруженные маркеры являются последовательными маркерами.

Любой специфичный для генома дикого огурца маркер в промежуточном положении между двумя маркерами относится к любому молекулярному маркеру, который генетически картируется в области хромосомы 1 между двумя маркерами и/или который физически находится между двумя маркерами и указывает на область хромосомы 1 дикого огурца. Это означает, что маркер является полиморфным между геномом посевного огурца и геномом дикого огурца. В одном аспекте маркер представляет собой однонуклеотидный полиморфизм (ОНП), при этом также могут использоваться другие молекулярные маркеры, такие как RFLP, AFLP, RAPD, секвенирование ДНК и т.д.

Фрагмент интрогрессии в растениях по настоящему изобретению находится в одном аспекте фрагмента хромосомы 1 (содержащий ЛКП1.2), который присутствует в семенах, депонированных под идентификационным номером NCIMB43745, или уменьшенной версии этого фрагмента, сохраняющего ЛКП (получаемый, например, путем рекомбинации внутри фрагмента интрогрессии).

Фрагмент интрогрессии в одном аспекте имеет размер, который не превышает 3 Мб, предпочтительно не превышает 2,7 Мб, 2,6 Мб, 2,5 Мб, 2 Мб, 1,5 Мб, 1 Мб. В другом аспекте, фрагмент интрогрессии имеет размер не менее 0,5 Мб или не менее 1 Мб.

Также предусмотрены семена, из которых можно вырастить растение по изобретению, а также плоды огурца, собранные с растения по изобретению и содержащие в своем геноме рекомбинантную хромосому 1 (ЛКП1.2 или вариант). Аналогичным образом предусмотрена растительная клетка, ткань или часть растения или семени, содержащая, по меньшей мере, одну рекомбинантную хромосому 1 (содержащую ЛКП1.2 или вариант), отличающаяся тем, что указанная рекомбинантная хромосома 1 содержит фрагмент интрогрессии дикого или примитивного огурца, и указанный фрагмент интрогрессии содержит аллель, обеспечивающий значительное повышение резистентности к ToLCNDV-ES.

Молекулярные маркеры, описанные по тексту настоящей заявки, могут быть обнаружены стандартным методом. Например, маркеры ОНП можно легко обнаружить с помощью анализа KASP (см. www.kpbioscience.co.uk) или других методов генотипирования ОНП. Для подготовки KASP-анализа можно выбрать, например, 50 или 70 пар оснований выше и 50 или 70 пар оснований после ОНП, а также сформировать два аллель-специфичных прямых праймера и один аллель-специфичный обратный праймер. Описание метода KASP приведено, например, в работе Allen et al. 2011 г., *Plant Biotechnology J.* 9, 1086-1099, стр. 097-1098.

Таким образом, в одном аспекте маркеры ОНП и наличие/отсутствие маркера, связанного с ЛКП1.2, определяют с использованием анализа KASP, при этом в равной степени можно использовать и другие методы генотипирования ОНП. Например, в равной степени можно использовать генотипирование ОНП TaqMan, анализ кривых плавления с высоким разрешением, массивы генотипирования ОНП (например, Fluidigm, Illumina и т.д.) или секвенирование ДНК.

Физический размер фрагмента интрогрессии может быть определен различными методами, такими как физическое картирование, секвенирование или визуализация интрогрессии с помощью изображений флуоресцентной гибридизации *in situ* (Verlaan et al., 2011 г., *Plant Journal* 68: 1093-1103).

Растения посевного огурца с меньшими фрагментами интрогрессии на хромосоме 1 (содержащий ЛКП1.2 или его вариант) можно получить путем создания новых рекомбинантных растений из популяции растений, полученных в результате

скрещивания растения посевного огурца (без интрогрессии), растения по изобретению и селекции рекомбинантного потомства с меньшим размером интрогрессии. Таким образом, указанные растения в одном аспекте получены от (потомства или потомков) рекомбинантной хромосомы 1, присутствующей в растениях, семена которых были депонированы под номером NCIMB43745. Настоящая заявка охватывает такое потомство или потомков, которые сохраняют ЛКП1.2 и, следовательно, для них характерна более высокая резистентность к ToLCNDV-ES по сравнению с растениями без интрогрессии.

ЛКП1.2 или вариант ЛКП1.2 на хромосоме 2

Таким образом, в одном аспекте предусмотрено растение посевного огурца, содержащее фрагмент интрогрессии из дикого или примитивного огурца, отличающееся тем, что фрагмент интрогрессии содержит ЛКП2.1 или его вариант, а также отличающееся тем, что фрагмент интрогрессии содержит всю или часть области, начинающейся с нуклеотида (или основания) 15218569 хромосомы 1 (соответствует - ОНП_32) и заканчивающейся на нуклеотиде (или основании) 19535432 хромосомы 2 (соответствует - ОНП_47). Другими словами, вся или часть области, начинающейся на нуклеотиде 15218569 хромосомы 2 и заканчивающейся на нуклеотиде 19535432 хромосомы 2, в одном аспекте происходит из дикого огурца-донора и содержит ЛКП2.1 или его вариант. Подобласть, которая содержит ЛКП2.1, можно определить, например, с использованием метода точного картографирования. Так, например, если установлено, что ЛКП2.1 находится в промежуточном положении между ОНП_32 и ОНП_37, то растение по изобретению должно содержать лишь область интрогрессии, начинающуюся с нуклеотидов 15218569 хромосомы 2 (ОНП_32) и заканчивающуюся нуклеотидами 16378312 (ОНП_37) хромосомы 2.

В одном аспекте, ЛКП2.1 (или его вариант) расположен между маркером ОНП_32 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 32 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 32) и маркером ОНП_47 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 47 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 47). В другом аспекте, ЛКП2.1 (или его вариант) расположен между маркером ОНП_32 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 32 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 32) и маркером ОНП_37 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 37 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 37). В другом аспекте, ЛКП2.1 (или его вариант) расположен между маркером ОНП_37 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 37 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 37) и маркером ОНП_42 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 42 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 42). В другом аспекте, ЛКП2.1 (или его вариант) расположен между маркером ОНП_42 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 42 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 42) и маркером ОНП_47 на нуклеотиде 51 SEQ ID

NO: 47 (или нуклеотид 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 47). В другом аспекте, ЛКП2.1 (или его вариант) расположен между маркером ОНП_34 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 34 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 34) и маркером ОНП_44 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 44 (или нуклеотид 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 44).

В другом аспекте, фрагмент интрогрессии согласно изобретению (содержащий ЛКП2.1 или его вариант) представляет собой фрагмент, содержащий меньший фрагмент (часть) участка, начинающегося на нуклеотиде (или основании) 15218569 хромосомы 2 и заканчивающегося на нуклеотиде (или основании) 19535432 хромосомы 2, например, имеющий размер, например, 4,4 Мб, 4,3 Мб, 4,2 Мб, 4,0 Мб, 3,0 Мб, 2,5 Мб, 2 Мб, 1Мб, 0,5Мб, 100кб, 50кб, 35кб, 30кб, 20кб, или менее и содержащий ЛКП или его вариант. В одном аспекте, размер части составляет не менее 5кб, 10кб, 20кб или более.

В одном аспекте культивируемое растение огурца по настоящему изобретению содержит фрагмент интрогрессии из дикого или примитивного огурца, при этом указанный фрагмент интрогрессии содержит ЛКП2.1 или его вариант, отличающийся тем, что фрагмент интрогрессии содержит всю часть области, начиная с 15,2 Мб и заканчивая на 19,6 Мб физической хромосомы 2.

В одном аспекте фрагмент интрогрессии на хромосоме 2, содержащей ЛКП2.1, или его вариант, можно получить путем скрещивания растения, выращенного из NCIMB43745, с другим растением огурца, в частности, растением посевного огурца, в одном аспекте, длинного огурца, засолочного огурца или салатного огурца.

В одном аспекте, растение посевного огурца по изобретению, содержащее ЛКП2.1, или его вариант, представляет собой растение, отличающееся тем, что указанный фрагмент интрогрессии хромосоме 2 можно получить путем скрещивания растения, выращенного из семян, депонированных под идентификационным номером NCIMB43745, с другим растением огурца. Таким образом, в одном аспекте ЛКП представляет собой ЛКП, присутствующий в семенах, депонированных под идентификационным номером NCIMB43745.

В другом аспекте, растение посевного огурца по настоящему изобретению, содержащее ЛКП2.1, или его вариант, представляет собой растение, отличающееся тем, что указанный фрагмент интрогрессии на хромосоме 2 можно получить путем скрещивания растения, содержащего тот же гаплотип ОНП или генотип ОНП для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более маркеров ОНП, связанных с ЛКП (т.е. ОНП_32 - ОНП_47 для ЛКП1.2, как показано в Таблице 3) с другим растением огурца, в частности с элитной селекционной линией посевного огурца. Таким образом, в одном аспекте ЛКП представляет собой ЛКП, присутствующий в образцах диких доноров, которые содержат один и тот же гаплотип или генотип ОНП для, в меньшей степени, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более маркеров ОНП, как, например, в NCIMB43745. Донор также предпочтительно имеет фенотип резистентности и средний индекс заболеваемости ToLCNDV-ES, по меньшей мере, 7,5, предпочтительно, по меньшей мере, 8,0, 8,1, 8,2, 8,3, 8,4, 8,5, 8,6, 8,7, 8,8, 8,9 или 9,0.

По тексту настоящей заявки под маркерами ОНП, которые указывают на присутствие фрагмента интрогрессии (и ЛКП, который обеспечивает резистентность к ToLCNDV-ES и присутствует на фрагменте интрогрессии), понимается генотип или гаплотип ОНП, который указывает на фрагмент интрогрессии, т.е. генотип или гаплотип ОНП, как указано, например, в Таблицах 1 – 4. Отмечено, что на основе генотипа ОНП-маркеров можно различать фрагменты интрогрессии, представленные в гомозиготной или гетерозиготной форме. В гомозиготной форме нуклеотид идентичен, а в гетерозиготной форме нуклеотид не идентичен. ОНП-генотип хромосомы «дикого типа» без фрагмента интрогрессии, представляет собой другой гаплотип, например, гаплотип рекуррентного родителя). Так, например, генотип ОНП_32, который указывает на наличие фрагмента интрогрессии, содержащего ЛКП2.1, представляет собой «ТС» (*ЛКП2.1/δm*) или «ТТ» (*ЛКП2.1/ЛКП2.1*), тогда как генотип ОНП, который указывает на дикий тип/генетический контроль (где отсутствует фрагмент интрогрессии), это, например, «СС» (*δm/δm*). Его также можно записать как генотип ТХ' (*ЛКП2.1/δm*) или «ТТ» (*ЛКП2.1/ЛКП2.1*), при этом генотип ОНП, указывающий на дикий тип/генетический контроль (отсутствие фрагмента интрогрессии), представлен, например, «ХХ» (*δm/δm*). Х может быть представлен любым нуклеотидом (А, Т, С или G). Таким образом, когда речь идет о растении или

части растения (например, клетке), содержащей фрагмент интрогрессии в гомозиготной или гетерозиготной форме, подразумевается, что маркеры ОНП, связанные с фрагментом интрогрессии, имеют соответствующий генотип или гаплотип ОНП.

Соответственно, в одном аспекте предусмотрено посевное растение *Cucumis sativus* сорт sativus, содержащее фрагмент интрогрессии хромосомы 2 в гомозиготной или гетерозиготной форме, причем указанный фрагмент интрогрессии обеспечивает увеличение резистентности к ToLCNDV-ES (по меньшей мере в случаях, когда фрагмент представлен в гомозиготной форме) по сравнению с растением огурца, лишенным фрагмента интрогрессии на хромосоме 2, например, генетическим контрольным сортом или контрольным сортом при выращивании в аналогичных условиях.

Повышение резистентности к ToLCNDV-ES фенотипически выражается в виде более высокого среднего индекса заболеваемости (меньшее пожелтение, измеренное, например, по результатам анализа заболеваемости, как описано в настоящей заявке) линии или сорта растений посевного огурца, содержащих фрагмент интрогрессии на хромосоме 2 в гомозиготной форме по сравнению с генетической контрольной линией или сортом, лишенным фрагмента интрогрессии на хромосоме 2 при выращивании в той же среде. Средний индекс заболеваемости предпочтительно возрастает, по меньшей мере, на 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0 или более баллов по шкале заболеваемости с 2,0 (для 90-100% площади листьев характерны симптомы мозаики пожелтения) до 9,0 (отсутствие симптомов). Так, например, если ЛКП2.1 вводится в восприимчивую линию или сорт огурца, имеющий средний индекс заболеваемости порядка 4,0, введение ЛКП2.1 предпочтительно повышает средний индекс заболеваемости в среднем до, по меньшей мере, 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0 или более, по меньшей мере, когда ЛКП2.1 представлен в гомозиготной форме. Поскольку было установлено, что ЛКП2.1 является рецессивным или частично рецессивным, влияние ЛКП2.1 на резистентность к ToLCNDV-ES предпочтительно определяют, когда он представлен в гомозиготной форме.

Известно, что все четыре ЛКП вместе в гомозиготной форме (ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1) дают средний индекс заболеваемости на уровне 9,0 при введении в восприимчивое растение, имеющее средний индекс заболеваемости порядка 4,0 – 5,0. Влияние отдельных ЛКП будет меньше, чем комбинированный эффект, но все равно будет проявляться в виде снижения симптомов ToLCNDV-ES. Влияние одного ЛКП1.2 определяется путем введения одного ЛКП в восприимчивое растение огурца. Поскольку ЛКП2.1 является рецессивным или частично рецессивным, влияние ЛКП2.1 на фенотип предпочтительно определяют, когда ЛКП2.1 представлен в гомозиготной форме.

Таким образом, растения по изобретению содержат геном посевного огурца, по меньшей мере, с одной или двумя рекомбинантными хромосомами, а именно с одной или двумя рекомбинантными хромосомами 2 (т.е. гетерозиготной или гомозиготной). Рекомбинантные хромосомы содержат фрагмент дикого огурца-донора, который легко отличить от генома посевного огурца с помощью анализа молекулярных маркеров, полногеномного секвенирования, окраски хромосом и аналогичных методов.

В одном аспекте, фрагмент интрогрессии на хромосоме 2 от дикого или примитивного огурца, содержит ToLCNDV-ES ЛКП2.1, или его вариант, и включает всю или часть участка, начинающегося на нуклеотиде ОНП_32 и заканчивающегося на ОНП_47. Таким образом, фрагмент интрогрессии содержит ЛКП2.1 или его вариант и один, несколько, или все (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16) маркеры ОНП дикого донора, выбранные из ОНП_32 - ОНП_47, как указано в Таблице 3.

В одном аспекте, фрагмент интрогрессии содержит ЛКП2.1 и одну, несколько или все SEQ ID NO: 32 - SEQ ID NO: 47.

В одном аспекте, присутствие фрагмента интрогрессии на хромосоме 2, содержащей ЛКП2.1 в геноме растения, или клетке растения, или ткани растения (или в ДНК, извлеченной из него) обнаруживается с помощью анализа молекулярных маркеров, который позволяет обнаружить один или более молекулярных маркеров фрагмента интрогрессии, особенно гаплотип или генотип ОНП донора для, по

меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более ОНП_32 - ОНП_47, на нуклеотиде 51 от SEQ ID NO: 32 до 47, соответственно. Однако, как уже указывалось ранее, могут быть использованы и другие методы, например, генотип ОНП маркеров также может определяться путем секвенирования или с использованием альтернативных маркеров, расположенных в промежуточном положении маркеров ОНП, предусмотренных по тексту настоящей заявки, или в пределах 7 сМ, или в пределах 5 сМ от маркера, предусмотренного настоящей заявкой; или в пределах 5 Мб, 3 Мб, 2,5 Мб, 2 Мб, 1 Мб, 0,5 Мб, 0,4 Мб, 0,3 Мб, 0,2 Мб, 0,1 Мб, 50 Кб, 20 Кб, 10 Кб, 5 Кб, 2 Кб, 1 Кб или менее от маркера, предусмотренного настоящей заявкой.

В одном аспекте, присутствие фрагмента интрогрессии на хромосоме 2, содержащей ЛКП2.1 в геноме растения, или клетке растения, или ткани растения (или в ДНК, извлеченной из него) можно обнаружить путем обнаружения присутствия одной или более или всех последовательностей SEQ ID NO: 32 - SEQ ID NO: 47.

Ссылка по тексту настоящей заявки на один или более молекулярных маркеров или последовательностей, которые «обнаруживаются», например, посредством анализа молекулярных маркеров, во всех случаях означает, что растение или часть растения содержит один или более маркеров или последовательностей в своем геноме, поскольку в противном случае маркер или последовательность не были бы обнаружены.

Растения огурца, содержащие фрагмент интрогрессии на хромосоме 2 (ЛКП2.1) или его вариант

В одном аспекте, культурное растение *Cucumis sativus* сорт *sativus*, содержащее фрагмент интрогрессии дикого или примитивного огурца на хромосоме 2 в гомозиготной или гетерозиготной форме, при этом указанный фрагмент интрогрессии включает в себя локус количественного признака (ЛКП), расположенный между маркером однонуклеотидного полиморфизма ОНП_32 и нуклеотидом 51 SEQ ID NO: 32 (или на нуклеотиде 51 варианта SEQ ID NO: 32) и маркер однонуклеотидного полиморфизма ОНП_47 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 47 (или на нуклеотиде 51 варианта SEQ ID NO: 47), при этом данный ЛКП обеспечивает повышение резистентности к ToLCNDV-ES, по крайней мере в случаях, когда ЛКП2.1 (или вариант)

представлен в гомозиготной форме. В одном аспекте, ЛКП расположен между основанием 15218569 (ОНП_32) и основанием 19535432 (ОНП_47) хромосомы 2.

Таким образом, в одном аспекте ЛКП2.1 (или его вариант) расположен в области между ОНП_32 в последовательности SEQ ID NO: 32 (или ее вариантом) и ОНП_47 в SEQ ID NO: 47 (или ее вариантом).

Таким образом, в одном аспекте культивируемое растение *Cucumis sativus* *sорт sativus*, содержащее фрагмент интрогрессии на хромосоме 2 в гомозиготной или гетерозиготной форме, отличающийся тем, что указанный фрагмент интрогрессии обеспечивает увеличение резистентности к ToLCNDV-ES, по крайней мере в случаях, когда фрагмент интрогрессии представлен в гомозиготной форме (по сравнению с растением, лишенным фрагмента интрогрессии, например генетическим контрольным растением), и отличающийся тем, что указанный фрагмент интрогрессии включает в себя маркерный гаплотип ОНП или генотип, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 ОНП маркеров, выбранных из группы, состоящей из:

- a) TX или TT генотип для маркера ОНП_32 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 32 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- b) TX или TT генотип для маркера ОНП_33 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 33 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- c) CX или CC генотип для маркера ОНП_34 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 34 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- d) AX или AA генотип для маркера ОНП_35 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 35 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- e) TX или TT генотип для маркера ОНП_36 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 36 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- f) CX или CC генотип для маркера ОНП_37 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 37 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- g) GX или GG генотип для маркера ОНП_38 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 38 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);

- h) CX или CC генотип для маркера ОНП_39 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 39 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- i) GX или GG генотип для маркера ОНП_40 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 40 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- j) TX или TT генотип для маркера ОНП_41 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 41 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- k) AX или AA генотип для маркера ОНП_42 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 42 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- l) TX или TT генотип для маркера ОНП_43 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 43 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- m) TX или TT генотип для маркера ОНП_44 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 44 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- n) GX или GG генотип для маркера ОНП_45 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 45 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- o) AX или AA генотип для маркера ОНП_46 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 46 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- p) GX или GG генотип для маркера ОНП_47 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 47 (или на нуклеотиде 51 в его варианте).

При указании ОНП в альтернативной последовательности данная вариантная последовательность, по меньшей мере, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична указанной последовательности. X обозначает любой нуклеотид последовательности на другой хромосоме 1 пары хромосом. В одном аспекте X может быть нуклеотидом рекуррентного родителя, как описано в Таблице 3.

В одном аспекте, указанные, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 маркеров являются последовательными маркерами.

Фрагмент, содержащий ЛКП2.1, таким образом, может быть большим (содержать ОНП_32 - ОНП_47), а может быть меньшим и не содержать маркеров, имеющих генотип или гаплотип дикого огурца (т.е. маркеры вместо этого имеют

генотип или гаплотип посевного огурца, см. также таблицу 3, ОНП-гаплотип рекуррентного родителя), при этом он все же может обеспечивать повышенную резистентность растения посевного огурца к ToLCNDV-ES, т.е. он все еще может содержать аллель ToLCNDV-ES (ЛКП2.1 или вариант). Такие меньшие фрагменты интрогрессии представляют собой вариант осуществления изобретения. Растения, имеющие меньшие фрагменты интрогрессии, которые тем не менее обеспечивают повышение резистентности к ToLCNDV-ES (т.е. содержат аллель резистентности), могут быть получены с использованием известных методов, таких как точное картирование или аналогичные методы. Например, начиная с растения, содержащего фрагмент интрогрессии, обнаруженный в семенах, депонированных под идентификационным номером NCIMB 43745, и скрещивая такое растение с другим растением посевного огурца и самоопыляя потомство от указанного скрещивания, и/или проводя обратное скрещивание потомства с тем, чтобы получить популяцию растений, которые могут содержать рекомбинанты, имеющие меньший фрагмент интрогрессии на хромосоме 2, при этом указанные фрагменты, тем не менее, обеспечивают повышенную резистентность к ToLCNDV-ES по сравнению с растением, которое не содержит фрагмент интрогрессии (такого как генетический контрольный сорт, например, растения, выращенные из семян, депонированных под номером NCIMB42344), например фрагмент, содержащий маркеры ОНП_32 - ОНП_37, или ОНП_37 - ОНП_42, или ОНП_42 - ОНП_47 или ОНП_34 - ОНП_44. Для определения размера меньшего фрагмента интрогрессии можно использовать метод маркерного анализа. Могут отсутствовать один или более маркеров ОНП с генотипом или гаплотипом дикого огурца-донора. После этого по указанным маркерам ОНП определяют генотип или гаплотип посевного огурца. Резистентность к ToLCNDV-ES растений, содержащих указанный меньший фрагмент интрогрессии, затем можно сравнить с помощью анализа заболеваемости, как описано по тексту настоящей заявки, т.е. путем выращивания множества растений, содержащих меньший фрагмент интрогрессии, в экспериментах вместе с подходящими контрольными растениями, которые не содержат фрагмент интрогрессии. Контрольные растения предпочтительно представляют собой генетические контрольные сорта, такие как NCIMB43744. Если средний индекс заболеваемости ToLCNDV-ES существенно выше,

чем в случае с контрольным сортом, это означает, что меньший фрагмент интрогрессии сохранил ЛКП2.1.

В некоторых случаях, тот же ЛКП или его вариант (ЛКП2.1 или вариант ЛКП2.1) может быть интрогрессирован из разных образцов дикого донора, при этом в некоторых случаях могут присутствовать не все маркеры ОНП, предусмотренные по тексту настоящей заявки, т.е. гаплотип ОНП донорского образца может быть только идентичен гаплотипу ОНП ЛКП2.1, присутствующему в семенах NCIMB43745 для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более ОНП. Такие альтернативные доноры дикого огурца можно идентифицировать с использованием маркеров ОНП, предусмотренных настоящей заявкой, путем скрининга зародышевой плазмы (т.е. образцов) дикого или примитивного огурца с использованием маркерного анализа для обнаружения генотипа или гаплотипа одного или более маркеров ОНП_32 - ОНП_47, или маркеров ОНП_32 - ОНП_37, ОНП_37 - ОНП_42, ОНП_42 - ОНП_47 или ОНП_34 - ОНП_44, или даже меньшей подгруппы указанных маркеров (например, 2, 3 или 4). Например, в Таблице 3 представлены различные доноры (PI605996, CGN22263 и CGN22932, также известные как PI197087), которые имеют одинаковый гаплотип ОНП для ОНП_32 - ОНП_47. Таким же образом могут быть идентифицированы и другие доноры, содержащие ЛКП2.1 или его вариант. Растения, содержащие ЛКП2.1 или его вариант от указанных доноров или получившие его из других источников, также представляют собой вариант осуществления изобретения. Таким образом, при условии, что хотя бы 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более (или все) ОНП ОНП_32 - ОНП_47, или ОНП_32 - ОНП_37, или ОНП_37 - ОНП_42, или ОНП ОНП_42 - ОНП_47 или ОНП_34 - ОНП_44 присутствуют, донор может содержать ЛКП2.1 (или его вариант) и охватывается настоящей заявкой. Затем специалист в данной области может выполнить интрогрессию ЛКП2.1 (или его варианта) в посевной огурец с тем, чтобы повысить резистентность к ToLCNDV-ES, как описано по тексту настоящей заявки, и подтвердить, что ЛКП повышает резистентность к ToLCNDV-ES, если он присутствует в посевном огурце. Перед интрогрессией дикий донор также может быть проверен на резистентность к ToLCNDV-ES в рамках анализа, как описано выше, и, например, может быть выбран донор, имеющий средний индекс заболеваемости ToLCNDV-ES, например, по меньшей мере, 7,5, 8,0, 8,5 или 9,0.

Как указано выше, в одном варианте осуществления растение посевного огурца по настоящему изобретению содержит фрагмент интрогрессии, содержащий, по меньшей мере, подмножество ОНП-маркеров с генотипом (или гаплотипом) дикого огурца-донора, т.е. не менее 5, 6, 7, 8, 9 или более маркеров ОНП_32 - ОНП_47, или не менее 3 маркеров ОНП_32 - ОНП_37, или ОНП_37 - ОНП_42, или ОНП_42 - ОНП_47, или ОНП_34 - ОНП_44. В одном аспекте растение посевного огурца содержит все или все, кроме 1 или 2 маркеров ОНП_32 - ОНП_47, или ОНП_32 - ОНП_37, или ОНП_37 - ОНП_42, или ОНП_42 - ОНП_47, или ОНП_34 - ОНП_44.

Таким образом, фрагмент интрогрессии (и растения или части растения посевного огурца, например, клетки, содержащей фрагмент интрогрессии) можно обнаружить в рамках маркерного анализа путем обнаружения генотипа ОНП или гаплотипа фрагмента интрогрессии (т.е. зародышевой плазмы дикого огурца) одного, нескольких или всех вышеуказанных маркеров, предпочтительно, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8 или более.

Таким образом, в одном аспекте было установлено, что локус количественного признака (ЛКП2.1) присутствует на хромосоме 2 донора дикого огурца, который при переносе (интрогрессии) в сорт или селекционную линию посевного огурца, а также, как минимум, при присутствии в гомозиготной форме, значительно повышает резистентность растения посевного огурца к ToLCNDV-ES. ЛКП, или фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКП (содержащий аллель резистентности к ToLCNDV), является частично рецессивным, т.е. предпочтительно, чтобы фрагмент интрогрессии присутствовал на обеих хромосомах 2 (двух рекомбинантных хромосомах 2).

Несмотря на то, что нынешний источник ЛКП2.1, который использовался для картирования и интрогрессии ЛКП, является единственным специфическим диким источником, существуют и другие дикие образцы, которые содержат ЛКП2.1 (или вариант) в том же локусе на хромосоме 2. Например, было установлено, что дикие образцы PI605996, CGN22263 и CGN22932, также известные как PI197087, содержат один и тот же гаплотип ОНП для маркеров ОНП_32 - ОНП_47 (как указано в Таблице 3) и демонстрируют резистентность к ToLCNDV-ES. Таким образом, (вариант) ЛКП2.1 от тех или иных доноров может быть интрогрессирован в посевной огурец, в

некоторых случаях в комбинации с одним или несколькими локусами ЛКП1.2, ЛКП1.1 и ЛКП3.1. Аналогично, другие образцы диких или примитивных огурцов могут быть проверены на наличие гаплотипа ОНП или генотипа одного, нескольких или всех ОНП_32 - ОНП_47.

Такие другие доноры могут содержать аллель резистентности к ToLCNDV-ES, который имеет немного другие нуклеотидные последовательности, т.е. варианты аллеля (ЛКП2.1), предусмотренные по тексту настоящей заявки. Такие варианты ЛКП также можно идентифицировать и интрогрессировать в посевной огурец, как описано по тексту настоящей заявки, для получения растения посевного огурца, содержащего геном посевного огурца *C. sativus* сорт *sativus* и рекомбинантную хромосому 2, отличающегося тем, что рекомбинантная хромосома 2 содержит фрагмент интрогрессии, который обеспечивает повышенную резистентность растения посевного огурца к ToLCNDV-ES, когда он, по меньшей мере, представлен в гомозиготной форме. Для того, чтобы идентифицировать указанные образцы диких доноров, содержащих ЛКП2.1, можно провести скрининг диких образцов, например, путем анализа маркеров или сравнения последовательностей или других методов на наличие одного или более ОНП-маркеров, предусмотренных настоящей заявкой. Предполагаемый ЛКП (или вариант ЛКП) затем может быть интрогрессирован в посевной огурец, например, с использованием MAS, т.е. с использованием одного или более (или всех) ОНП-маркеров, предусмотренных настоящей заявкой, для обнаружения и/или селекции растений-потомков (например, растений обратного скрещивания), содержащих рекомбинантную хромосому 2. Прошедшие селекцию растения, т.е. растения посевного огурца, содержащие фрагмент интрогрессии хромосомы 2, отличающиеся тем, что фрагмент интрогрессии хромосомы 2 выявляется с помощью 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более ОНП-маркеров ОНП_32 - ОНП_47, которые затем могут быть фенотипированы в рамках анализа заболеваемости ToLCNDV-ES вместе с подходящими контрольными растениями, предпочтительно, по меньшей мере, с генетическими контрольными растениями для того, чтобы определить, действительно ли фрагмент интрогрессии вызывает значительное увеличение резистентности к ToLCNDV-ES.

Образцы дикого или примитивного огурца можно получить, например, из коллекции семян Национальной системы зародышевой плазмы растений Министерства сельского хозяйства США или других коллекций семян, и, таким образом, их можно проверить на наличие ЛКП2.1, используя, например, маркерный анализ, как описано в настоящем документе, и образцы, содержащие 5 или более маркеров ОНП (например, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более маркеров ОНП, указывающих на ЛКП2.1 или его вариант), можно скрещивать с растением посевного огурца, содержащим нормальные нерекомбинантные хромосомы 2 дикого типа. Поколение F1 или F2 (или дальнейшее поколение, такое как поколение F3 или поколение обратного скрещивания) может затем подвергаться скринингу на наличие рекомбинантных растений, содержащих фрагмент интрогрессии или его часть, с использованием анализа молекулярных маркеров, описанных по тексту настоящей заявки.

В одном аспекте, фрагмент интрогрессии получен от донора, содержащего гаплотип ОНП для ЛКП2.1, как указано в Таблице 3 для интрогрессионного донора (NCIMB43745), PI605996, CGN22263 или CGN22932, также именуемого PI197087.

В конкретном варианте осуществления фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКП2.1 (или его вариант) для ToLCNDV-ES, может быть получен из или выведен из или сформирован из; или присутствует в) семян(-ах), репрезентативный образец которых был депонирован под идентификационным номером NCIMB 43745, или из его потомства, или из семян, имеющих идентификационный номер PI605996 (коллекция USDA ARS-GRIN), или из семян, имеющих идентификационный номер CGN22263 или CGN22932 (коллекция Wageningen CGN), или из семян, имеющих идентификационный номер PI197087 (USDA) коллекции ARS-GRIN) или от потомков любого из них. Потомство может представлять собой любое потомство, которое сохраняет маркеры ОНП или гаплотип, указывающий на ЛКП (и связанный с ним), как указано в тексте. Таким образом, потомство не ограничивается потомством F1 или F2 депозита или образца, но может представлять собой любое потомство, независимо от того, получено ли оно путем самоопыления и/или скрещивания с другим растением огурца.

В одном варианте осуществления фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКП2.1 (или вариант), можно идентифицировать с помощью одного или нескольких маркеров, описанных в других разделах настоящей заявки, особенно маркеров ОНП_32 - ОНП_47 для фрагмента интрогрессии на хромосоме 2 или подмножества маркеров, таких как один или несколько маркеров, выбранных из маркеров ОНП_32 - ОНП_37, или ОНП_37 - ОНП_42, или ОНП_42 - ОНП_47, или ОНП_34 - ОНП_44. В одном аспекте изобретение относится к растению посевного огурца, имеющему геном посевного (одомашненного) огурца, который обладает повышенной резистентностью к ToLCNDV-ES, при этом повышенная резистентность обеспечивается за счет фрагмента интрогрессии на хромосоме 2 посевного огурца, причем указанный фрагмент интрогрессии получают путем скрещивания культурного растения, выращенного из семян, депонированных под номером NCIMB 43745, или потомства такого растения (которое содержит один или несколько описываемых по тексту настоящей заявки маркеров, связанных с ЛКП) с растением посевного огурца. Таким образом, в одном аспекте растение посевного огурца по настоящему изобретению содержит тот же фрагмент интрогрессии и ту же рекомбинантную хромосому 2, что и представленные в NCIMB 43745 (содержащий весь гаплотип дикого донора для ОНП-маркеров ОНП_32 - ОНП_47 или содержащий SEQ ID NO: от 32 до 47), или содержит более короткий фрагмент указанного фрагмента интрогрессии, отличающегося тем, что короткий фрагмент сохраняет генетический элемент, придающий резистентность к ToLCNDV-ES (ЛКП2.1).

Таким образом, в одном аспекте изобретение относится к растению по изобретению, т.е. посевному *Cucumis sativus* сорт *sativus*, содержащему фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКП2.1 от дикого огурца на хромосоме 2 в гомозиготной или гетерозиготной форме, причем указанный фрагмент интрогрессии представляет собой фрагмент интрогрессии «как в» / «идентичный» / «такой же, как в» семенах, депонированных под номером NCIMB 43745, или является его более коротким фрагментом, но при этом также придает повышенную резистентность к ToLCNDV-ES благодаря присутствию ЛКП2.1.

Поскольку SEQ ID NO: 32 - 47 принадлежат дикому донору, использованному для получения NCIMB43745, они могут использоваться для идентификации фрагмента интрогрессии или субфрагментов конкретного донора.

В еще одном варианте изобретение относится к растению по изобретению, т.е. растение посевного огурца *Cucumis sativus* сорт *sativus*, содержащее фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКП2.1 дикого огурца на хромосоме 2 в гомозиготной или гетерозиготной форме, причем указанный фрагмент интрогрессии является фрагментом интрогрессии, который представляет собой вариант фрагмента интрогрессии семян, депонированных под номером NCIMB 43745, т.е. содержит ЛКП2.1, при этом геномная последовательность может быть другой. Поскольку дикие образцы будут генетически дивергентными, геномная последовательность фрагмента интрогрессии, содержащего ЛКП2.1 из других диких или примитивных огурцов, скорее всего, не будет идентична геномной последовательности, интрогрессированной в NCIMB 43745, и даже ген, передающий резистентность к ToLCNDV-ES (включая промоторы, интроны и экзоны) может отличаться по нуклеотидной последовательности, при этом функция будет той же, т.е. обеспечение повышенной резистентности. Расхождение проявляется в том, что некоторые маркеры ОНП, связанные с ЛКП2.1, обычно встречаются в различных образцах, в то время как другие маркеры ОНП могут быть обнаружены только в определенных образцах. Так, например, не все ОНП_32 – ОНП_47 можно обнаружить у других доноров дикого огурца. Например, образец может иметь немного отличающийся гаплотип ОНП для ОНП_32 - ОНП_47, с одним или двумя маркерами ОНП, имеющими разные нуклеотиды. При этом ЛКП2.1 (содержащий, например, вариант или ортолог аллеля резистентности к ToLCNDV-ES) по-прежнему может присутствовать в таких диких образцах. Специалист в данной области способен идентифицировать и выполнить интрогрессию области, содержащей ЛКП2.1, встречающуюся у других доноров дикого огурца, в посевной огурец, например, путем обнаружения диких образцов, содержащих маркеры ОНП или их подмножество, и переноса таких маркеров ОНП (или подмножества) в линию или сорт посевного огурца, и выполнив оценку резистентности культивируемой линии или сорта (предпочтительно содержащей ЛКП2.1 в гомозиготной форме) к ToLCNDV-ES по сравнению с линией или сортом,

не имеющими маркеров ОНП (или их подмножества), т.е. линией или сортом, у которых отсутствует фрагмент интрогрессии. Даже в тех случаях, когда гаплотип ОНП для ОНП_32 - ОНП_47 идентичен ОНП-гаплотипу ЛКП2.1, встречающемуся в семенах NCIMB 43745, фактические нуклеотидные последовательности, фланкирующие ОНП на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 32 – 47 у других доноров могут отличаться. Таким образом, другие доноры могут содержать тот же нуклеотид ОНП на нуклеотиде 51, но в последовательности, которая, по меньшей мере, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности SEQ ID NO: 32 – 47, в случае, например, попарного выравнивания. Данную вариацию можно увидеть путем секвенирования доноров и выравнивания последовательностей SEQ ID NO: 32 - SEQ ID NO: 47 с указанной последовательностью.

В одном варианте осуществления наличие фрагмента интрогрессии, содержащей ЛКП2.1, или область хромосомы 2 (вариант или ортологическую область хромосомы 2), содержащей ЛКП2.1, обнаруживается с помощью анализа молекулярных маркеров, который позволяет выявить, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 маркеров однонуклеотидного полиморфизма (ОНП), выбранных из группы, состоящей из:

- a) TX или TT генотип для маркера ОНП_32 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 32 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- b) TX или TT генотип для маркера ОНП_33 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 33 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- c) CX или CC генотип для маркера ОНП_34 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 34 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- d) AX или AA генотип для маркера ОНП_35 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 35 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- e) TX или TT генотип для маркера ОНП_36 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 36 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- f) CX или CC генотип для маркера ОНП_37 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 37 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);

- g) GX или GG генотип для маркера ОНП_38 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 38 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- h) CX или CC генотип для маркера ОНП_39 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 39 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- i) GX или GG генотип для маркера ОНП_40 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 40 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- j) TX или TT генотип для маркера ОНП_41 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 41 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- k) AX или AA генотип для маркера ОНП_42 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 42 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- l) TX или TT генотип для маркера ОНП_43 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 43 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- m) TX или TT генотип для маркера ОНП_44 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 44 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- n) GX или GG генотип для маркера ОНП_45 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 45 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- o) AX или AA генотип для маркера ОНП_46 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 46 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- p) GX или GG генотип для маркера ОНП_47 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 47 (или на нуклеотиде 51 в его варианте).

В одном аспекте, указанные, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 маркеров, которые выявлены, являются последовательными маркерами.

Таким образом, в одном варианте осуществления растения согласно изобретению содержат, по меньшей мере, Тиамин (Т) (т.е. TT или TX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 32 (именуемый ОНП_32) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO: 32 (другими словами, это Тиамин в физическом положении хромосомы 2, показанном в Таблице 3);

и/или, по меньшей мере, Тиамин (Т) (т.е. ТТ или ТХ генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 33 (именуемый ОНП_33) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:33 (другими словами, это Тиамин в физическом положении хромосомы 2, показанном в Таблице 3);

и/или, по меньшей мере, Цитозин (С) (т.е. СС или СХ генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 34 (именуемый ОНП_34) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:34 (другими словами, это Цитозин в физическом положении хромосомы 2, показанном в Таблице 3);

и/или, по меньшей мере, Аденин (А) (т.е. АА или АХ генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 35 (именуемый ОНП_35) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:35 (другими словами, это Аденин в физическом положении хромосомы 2, показанном в Таблице 3);

и/или, по меньшей мере, Тиамин (Т) (т.е. ТТ или ТХ генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 36 (именуемый ОНП_36) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:36 (другими словами, это Тиамин в физическом положении хромосомы 2, показанном в Таблице 3);

и/или, по меньшей мере, Цитозин (С) (т.е. СС или СХ генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 37 (именуемый ОНП_37) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:37 (другими словами, это Цитозин в физическом положении хромосомы 2, показанном в Таблице 3);

и/или, по меньшей мере, Гуанин (G) (т.е. GG или GX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 38 (именуемый ОНП_38) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:38 (другими словами, это Гуанин в физическом положении хромосомы 2, показанном в Таблице 3);

и/или, по меньшей мере, Цитозин (C) (т.е. CC или CX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 39 (именуемый ОНП_39) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:39 (другими словами, это Цитозин в физическом положении хромосомы 2, показанном в Таблице 3);

и/или, по меньшей мере, Гуанин (G) (т.е. GG или GX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 40 (именуемый ОНП_40) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:40 (другими словами, это Гуанин в физическом положении хромосомы 2, показанном в Таблице 3);

и/или, по меньшей мере, Тиамин (T) (т.е. TT или TX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 41 (именуемый ОНП_41) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:41 (другими словами, это Тиамин в физическом положении хромосомы 2, показанном в Таблице 3);

и/или, по меньшей мере, Аденин (A) (т.е. AA или AX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 42 (именуемый ОНП_42) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:42 (другими словами, это Аденин в физическом положении хромосомы 2, показанном в Таблице 3);

и/или, по меньшей мере, Тиамин (T) (т.е. TT или TX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 43 (именуемый ОНП_43) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:43 (другими словами, это Тиамин в физическом положении хромосомы 2, показанном в Таблице 3);

и/или, по меньшей мере, Тиамин (T) (т.е. TT или TX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 44 (именуемый ОНП_44) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:44 (другими словами, это Тиамин в физическом положении хромосомы 2, показанном в Таблице 3);

и/или, по меньшей мере, Гуанин (G) (т.е. GG или GX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 45 (именуемый ОНП_45) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:45 (другими словами, это Гуанин в физическом положении хромосомы 2, показанном в Таблице 3);

и/или, по меньшей мере, Аденин (A) (т.е. AA или AX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 46 (именуемый ОНП_46) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:46 (другими словами, это Аденин в физическом положении хромосомы 2, показанном в Таблице 3);

и/или, по меньшей мере, Гуанин (G) (т.е. GG или GX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 47 (именуемый ОНП_47) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:47 (другими словами, это Гуанин в физическом положении хромосомы 2, показанном в Таблице 3).

В еще одном варианте осуществления наличие фрагмента интрогрессии или области хромосомы 2 (или варианта или ортологической области хромосомы 2), содержащей ЛКП2.1, можно обнаружить с помощью анализа молекулярных маркеров, который выявляет, по меньшей мере, 3, 4 или 5 маркеров однонуклеотидного полиморфизма (ОНП) в составе подгрупп, состоящих из: ОНП_32 - ОНП_37; ОНП_37 - ОНП_42; ОНП_42 - ОНП_47; или ОНП_34 - ОНП_44.

Генотип ОНП обозначает два нуклеотида и геномные последовательности, содержащие один из этих двух нуклеотидов, по одному на каждой хромосоме 2. Так, растение, имеющее генотип ТТ по ОНП_32, имеет идентичный нуклеотид (Т) на обеих хромосомах (т.е. является гомозиготным), а растение, имеющее генотип ТХ по ОНП_32, имеет одну хромосому с Т на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 32 (или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:32) и одну хромосому Х на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 32 (или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности

последовательности с SEQ ID NO:32) и является гетерозиготным, при этом X может представлять собой любой нуклеотид. Поскольку геномные последовательности вокруг маркеров ОНП, указанные по тексту настоящей заявки, могут незначительно отличаться во фрагментах интрогрессии от других доноров дикого огурца (т.е. варианты или ортологичные области хромосомы 2), очевидно, что нуклеотидные последовательности до и после ОНП не могут быть на 100% идентичны последовательностям, представленным в настоящей заявке. Таким образом, настоящей заявкой предусмотрены последовательности, которые в значительной степени идентичны (т.е., по меньшей мере, на 95%) последовательностям, предусмотренным настоящей заявкой, и при этом содержат ОНП.

В одном аспекте фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКП2.1 или область хромосомы 2 (или вариант или ортологическую область хромосомы 2), содержащую ЛКП (ЛКП2.1 или его вариант), который выявляется с помощью одного или более указанных выше маркеров, от дикого или примитивного огурца, и в одном аспекте дикий или примитивный огурец относится к индийской группе огурцов. В одном аспекте это тот же фрагмент интрогрессии, который обнаружен на хромосоме 2 в семенах, депонированных под идентификационным номером NCIMB 43745, или меньший фрагмент, сохраняющий ЛКП. Маркеры ОНП ОНП_32 – ОНП_47 охватывают область размером порядка 4,4 Мб. В одном аспекте размер фрагмента интрогрессии хромосомы 2 не превышает 4,5 Мб, предпочтительно не превышает 4,4 Мб, более предпочтительно не превышает 3 или 2,5 Мб по размеру, например, не превышает 2 Мб. В одном аспекте фрагмент интрогрессии имеет размер не менее 0,2 Мб, 0,5 Мб, 1,0 Мб, 1,5 Мб, 1,9 Мб, 2,0 Мб, 2,5 Мб, 2,7 Мб или 3 Мб. Таким образом, в настоящую заявку включены различные диапазоны размеров интрогрессии, такие как фрагменты размером менее 4,5 Мб, но более 0,2 Мб, менее 4,4 Мб или 3 Мб, но более 0,2 Мб, 0,5 Мб или 1 Мб и т.д., которые содержат ЛКП2.1 и один или несколько маркеров ОНП ОНП_32 - ОНП_47 или подгрупп ОНП_32 - ОНП_37; ОНП_37 - ОНП_42; ОНП_42 – ОНП_47 или ОНП_34 – ОНП_44. Как указывалось выше, местоположение ЛКП2.1 в области, охватывающей ОНП_32 - ОНП_47, может быть определено с помощью точного картирования и рекомбинантов, содержащих ЛКП2.1 на меньшем фрагменте интрогрессии. Размер фрагмента интрогрессии можно без

труда определить, например, путем полногеномного секвенирования или секвенирования следующего поколения, как, например, описано в работе *Qi et al. 2013* (см. выше) или в *Huang et al. 2009 г.* (см. выше). Области интрогрессии особенно легко можно отличить от культивируемых геномных областей из-за большего количества генетических вариаций (ОНП, вставок/делеций и т.д.) в области интрогрессии.

Для получения фрагмента интрогрессии на хромосоме 2 (содержащего ЛКП2.1) из депонированных семян (NCIMB43745), т.е. для переноса фрагмента интрогрессии, содержащего ЛКП, в другое растение посевного огурца, растение выращивают из семени и скрещивают с растением посевного огурца для получения семян F1. Поскольку NCIMB43745 содержит две рекомбинантные хромосомы 2 (включающие в себя фрагмент интрогрессии), все семена F1 и растения, выращенные из них, содержат одну рекомбинантную хромосому 2 от родителя NCIMB43745 и одну нерекомбинантную хромосому 2 от другого культивируемого родителя. Таким образом, путем традиционной селекции можно перенести рекомбинантную хромосому 2 из NCIMB43745 в другие культивируемые линии или сорта огурца. Растения, которые содержат ЛКП2.1, можно подвергать скринингу и селекции по наличию одного или более вышеуказанных ОНП-маркеров с тем, чтобы идентифицировать растения, содержащие рекомбинантную хромосому 2.

Для получения более коротких фрагментов интрогрессии (содержащих ЛКП2.1) должен произойти мейоз и должны быть идентифицированы растения, содержащие рекомбинантные хромосомы 2, и особенно новые события мейотической рекомбинации внутри фрагмента интрогрессии. Например, семена NCIMB43745 могут один или более раз подвергаться самоопылению для получения растений F1, F2 или F3 (или дальнейших самоопыляющихся поколений), и/или растений F1, F2 или F3 (и т.д.), содержащие рекомбинантную хромосому 2 и скрещиваться с культурным родителем. Растения, которые содержат рекомбинантную хромосому 2, можно подвергать скринингу и селекции на предмет наличия одного или более из вышеуказанных ОНП-маркеров, что позволит идентифицировать растения, содержащие меньший фрагмент интрогрессии. Такие новые рекомбинанты затем можно тестировать на наличие ЛКП2.1 на меньшем фрагменте интрогрессии (предпочтительно в гомозиготной форме) путем определения среднего индекса

заболеваемости в анализе заболеваемости ToLCNDV-ES по сравнению с (генетическим) контрольным растением, лишенным фрагмента интрогрессии.

Аналогичным образом, растения посевного огурца, содержащие ЛКП2.1 (или его вариант), могут быть получены и/или идентифицированы с использованием различных методов. Например, чтобы получить растение посевного огурца, содержащее фрагмент интрогрессии от дикого донора, идентифицируют дикого донора, который содержит один или более ОНП-маркеров, связанных с ЛКП2.1, указанных по тексту настоящей заявки, например, один, или более, или все маркеры, указанные выше по тексту настоящей заявки. Это, например, было сделано для различных диких образцов, см. раздел «Примеры». Идентифицированное растение скрещивают с растением посевного огурца для получения семян F1. Из F1 можно самоопылением получить растения F2, F3 и т.д. и/или растения F2 или растения F3, и т.д., а также выполнять обратное скрещивание с родительским посевным огурцом. Растения, которые содержат ЛКП2.1 (или его вариант), могут подвергаться скринингу и/или селекции по наличию одного или более из указанных выше ОНП-маркеров и/или подвергаться скринингу и/или селекции по фенотипу повышенной резистентности к ToLCNDV-ES (особенно в случаях, когда ЛКП2.1 представлен в гомозиготной форме) по сравнению с исходным культивируемым родителем (без интрогрессий). В некоторых случаях или в дополнение может выполняться картирование ЛКП для идентификации дополнительных молекулярных маркеров, связанных с ЛКП2.1 (или его вариантом) и/или получения растений посевного огурца, содержащих фрагмент интрогрессии на хромосоме 2, который в значительной степени повышает резистентность к ToLCNDV-ES, по меньшей мере, в случаях, когда он представлен в гомозиготной форме.

В одном варианте осуществления наличие фрагмента интрогрессии в растении посевного огурца или области хромосомы 2 (или ортологической области хромосомы 2), содержащей ЛКП2.1, можно обнаружить с помощью анализа молекулярных маркеров, который позволяет установить, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более маркеров, выбранных из группы, состоящей из:

- a) TT или TX генотип для маркера ОНП_32 однонуклеотидного полиморфизма в SEQ ID NO: 32 (или в ее варианте);
- b) GG или GX генотип для маркера ОНП_47 однонуклеотидного полиморфизма в SEQ ID NO: 47 (или в ее варианте);
- c) любого специфичного для генома дикого огурца маркера в положении между маркером ОНП_32 и ОНП_47.

В одном аспекте, маркеры, указанные в подпункте c), представляют собой один или более ОНП_33 - ОНП_46. В одном аспекте, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более маркеров обнаруживаются из указанных выше маркеров a), b) и/или c). В одном варианте осуществления обнаруживается, по меньшей мере, маркер a) и/или b) и в некоторых случаях, по меньшей мере, один, два, три или более маркеров c). В одном аспекте, обнаруженные маркеры являются последовательными маркерами.

Любой специфичный для генома дикого огурца маркер в промежуточном положении между двумя маркерами относится к любому молекулярному маркеру, который генетически картируется в области хромосомы 2 между двумя маркерами и/или который физически находится между двумя маркерами и указывает на область хромосомы 2 дикого огурца. Это означает, что маркер является полиморфным между геномом посевного огурца и геномом дикого огурца. В одном аспекте маркер представляет собой однонуклеотидный полиморфизм (ОНП), при этом также могут использоваться другие молекулярные маркеры, такие как RFLP, AFLP, RAPD, секвенирование ДНК и т.д.

Фрагмент интрогрессии в растениях по настоящему изобретению находится в одном аспекте фрагмента хромосомы 2 (содержащего ЛКП2.1), который присутствует в семенах, депонированных под идентификационным номером NCIMB43745, или уменьшенной версии этого фрагмента, сохраняющего ЛКП (получаемый, например, путем рекомбинации внутри фрагмента интрогрессии).

Фрагмент интрогрессии в одном аспекте имеет размер, который не превышает 4,5 Мб, предпочтительно не превышает 4,4Мб, 4,3Мб, 4,0Мб, 3,0Мб, 2,5Мб, 2Мб, 1,5Мб, 1Мб. В другом аспекте, фрагмент интрогрессии имеет размер не менее 0,5 МБ или не менее 1 МБ.

Также предусмотрены семена, из которых можно вырастить растение по изобретению, а также плоды огурца, собранные с растения по изобретению и содержащие в своем геноме рекомбинантную хромосому 2 (содержащую ЛКП2.1 или вариант). Аналогичным образом предусмотрена растительная клетка, ткань или часть растения или семени, содержащая, по меньшей мере, одну рекомбинантную хромосому 2 (содержащую ЛКП2.1 или вариант), отличающаяся тем, что указанная рекомбинантная хромосома 2 содержит фрагмент интрогрессии дикого или примитивного огурца, и указанный фрагмент интрогрессии содержит аллель, обеспечивающий значительное повышение резистентности к ToLCNDV-ES, по меньшей мере, когда он представлен в гомозиготной форме.

Молекулярные маркеры, описанные по тексту настоящей заявки, могут быть обнаружены стандартным методом. Например, маркеры ОНП можно легко обнаружить с помощью анализа KASP (см. www.kpbioscience.co.uk) или других методов генотипирования ОНП. Для подготовки KASP-анализа можно выбрать, например, 50 или 70 пар оснований выше и 50 или 70 пар оснований после ОНП, а также сформировать два аллель-специфичных прямых праймера и один аллель-специфичный обратный праймер. Описание метода KASP приведено, например, в работе Allen et al. 2011 г., *Plant Biotechnology J.* 9, 1086-1099, стр. 097-1098.

Таким образом, в одном аспекте маркеры ОНП и наличие/отсутствие маркера, связанного с ЛКП2.1, определяют с использованием анализа KASP, при этом в равной степени можно использовать и другие методы генотипирования ОНП. Например, в равной степени можно использовать генотипирование ОНП TaqMan, анализ кривых плавления с высоким разрешением, массивы генотипирования ОНП (например, Fluidigm, Illumina и т.д.) или секвенирование ДНК.

Физический размер фрагмента интрогрессии может быть определен различными методами, такими как физическое картирование, секвенирование или визуализация интрогрессии с помощью изображений флуоресцентной гибридизации *in situ* (Verlaan et al., 2011 г., *Plant Journal* 68: 1093-1103).

Растения посевного огурца с меньшим фрагментом интрогрессии на хромосоме 2 (содержащий ЛКП2.1 или его вариант) можно получить путем создания новых

рекомбинантных растений из популяции растений, полученных в результате скрещивания растения посевного огурца (без интрогрессии), растения по изобретению и селекции рекомбинантного потомства с меньшим размером интрогрессии. Таким образом, указанные растения в одном аспекте получены от (потомства или потомков) рекомбинантной хромосомы 2, присутствующей в растениях, семена которых были депонированы под номером NCIMB43745. Настоящая заявка охватывает такое потомство или потомков, которые сохраняют ЛКП2.1 и, следовательно, для них характерна более высокая резистентность к ToLCNDV-ES (по меньшей мере, когда ЛКП2.1 представлен в гомозиготной форме) по сравнению с растениями без интрогрессии.

ЛКПЗ.1 и варианты ЛКП1.1 на хромосоме 3

Таким образом, в одном аспекте предусмотрено растение посевного огурца, содержащее фрагмент интрогрессии из дикого или примитивного огурца, отличающееся тем, что фрагмент интрогрессии содержит ЛКПЗ.1 или его вариант, а также отличающееся тем, что фрагмент интрогрессии содержит всю или часть области, начинающейся с нуклеотида (или основания) 3637 хромосомы 3 (соответствует - ОНП_48) и заканчивающейся на нуклеотиде (или основании) 3885803 хромосомы 3 (соответствует - ОНП_62). Другими словами, вся или часть области, начинающейся на нуклеотиде 3637 хромосомы 3 и заканчивающейся на нуклеотиде 3885803 хромосомы 3, в одном аспекте происходит из дикого огурца-донора и содержит ЛКПЗ.1 или его вариант. Подобласть, которая содержит ЛКПЗ.1, можно определить, например, с использованием метода точного картографирования. Так, например, если установлено, что ЛКПЗ.1 находится в промежуточном положении между ОНП_48 и ОНП_52, то растение по изобретению должно содержать лишь область интрогрессии, начинающуюся с нуклеотида 3637 хромосомы 3 (ОНП_48) и заканчивающуюся нуклеотидом 376848 (ОНП_52) хромосомы 3.

В одном аспекте, ЛКПЗ.1 (или его вариант) расположен между маркером ОНП_48 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 48 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 48) и маркером ОНП_62 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 62 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 62).

В другом аспекте, ЛКПЗ.1 (или его вариант) расположен между маркером ОНП_48 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 48 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 48) и маркером ОНП_52 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 52 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 52). В другом аспекте, ЛКПЗ.1 (или его вариант) расположен между маркером ОНП_52 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 52 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 52) и маркером ОНП_57 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 57 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 57). В другом аспекте, ЛКПЗ.1 (или его вариант) расположен между маркером ОНП_57 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 57 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 57) и маркером ОНП_62 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 62 (или нуклеотид 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 62). В другом аспекте, ЛКПЗ.1 (или его вариант) расположен между маркером ОНП_50 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 50 (или на нуклеотиде 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 50) и маркером ОНП_59 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 59 (или нуклеотид 51 в альтернативной последовательности SEQ ID NO: 59).

В другом аспекте, фрагмент интрогрессии согласно изобретению (comprising ЛКПЗ.1 или его вариант) представляет собой фрагмент, содержащий меньший фрагмент (часть) участка, начинающегося на нуклеотиде (или основании) 3634 хромосомы 3 и заканчивающегося на нуклеотиде (или основании) 3885803 хромосомы 3, например, имеющий размер, например, 3,9 Мб 3,8 Мб, 3,5 Мб, 3,0 Мб, 2,5 Мб, 2 Мб, 1Мб, 0,5Мб, 100кб, 50кб, 35кб, 30кб, 20кб, или менее и содержащий ЛКП или его вариант. В одном аспекте, размер части составляет не менее 5кб, 10кб, 20кб или более.

В одном аспекте растение посевного огурца по настоящему изобретению содержит фрагмент интрогрессии из дикого или примитивного огурца, при этом указанный фрагмент интрогрессии содержит ЛКПЗ.1 или его вариант, отличающийся тем, что фрагмент интрогрессии содержит всю часть области, начиная с 0,003 Мб и заканчивая на 3,9 Мб физической хромосомы 3.

В одном аспекте фрагмент интрогрессии на хромосоме 3, содержащей ЛКПЗ.1, или его вариант, можно получить путем скрещивания растения, выращенного из

NCIMB43745, с другим растением огурца, в частности, растением посевного огурца, в одном аспекте, длинного огурца, засолочного огурца или салатного огурца.

В одном аспекте, растение посевного огурца по изобретению, содержащее ЛКПЗ.1, или его вариант, представляет собой растение, отличающееся тем, что указанный фрагмент интрогрессии хромосоме 3 можно получить путем скрещивания растения, выращенного из семян, депонированных под идентификационным номером NCIMB43745, с другим растением огурца. Таким образом, в одном аспекте ЛКП представляет собой ЛКП, присутствующий в семенах, депонированных под идентификационным номером NCIMB43745.

В другом аспекте, растение посевного огурца по настоящему изобретению, содержащее ЛКПЗ.1, или его вариант, представляет собой растение, отличающееся тем, что указанный фрагмент интрогрессии на хромосоме 3 можно получить путем скрещивания растения, содержащего тот же гаплотип ОНП или генотип ОНП для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более маркеров ОНП, связанных с ЛКП (т.е. ОНП_48 - ОНП_62 для ЛКПЗ.1, как показано в Таблице 4) с другим растением огурца, в частности с элитной селекционной линией посевного огурца. Таким образом, в одном аспекте ЛКП представляет собой ЛКП, присутствующий в образцах диких доноров, которые содержат один и тот же гаплотип или генотип ОНП для, в меньшей степени, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более маркеров ОНП, как, например, в NCIMB43745. Донор также предпочтительно имеет фенотип резистентности и средний индекс заболеваемости ToLCNDV-ES, по меньшей мере, 7,5, предпочтительно, по меньшей мере 8,0, 8,1, 8,2, 8,3, 8,4, 8,5, 8,6, 8,7, 8,8, 8,9 или 9,0.

По тексту настоящей заявки под маркерами ОНП, которые указывают на присутствие фрагмента интрогрессии (и ЛКП, который обеспечивает резистентность к ToLCNDV-ES и присутствует на фрагменте интрогрессии), понимается генотип или гаплотип ОНП, который указывает на фрагмент интрогрессии, т.е. генотип или гаплотип ОНП, как указано, например, в Таблицах 1 – 4. Отмечено, что на основе генотипа ОНП-маркеров можно различать фрагменты интрогрессии, представленные в гомозиготной или гетерозиготной форме. В гомозиготной форме нуклеотид идентичен, а в гетерозиготной форме нуклеотид не идентичен. ОНП-генотип

хромосомы «дикого типа» без фрагмента интрогрессии, представляет собой другой гаплотип, например, гаплотип рекуррентного родителя). Так, например, генотип ОНП_48, который указывает на наличие фрагмента интрогрессии, содержащего ЛКПЗ.1, представляет собой «АС» (*ЛКПЗ.1/∂m*) или «АА» (*ЛКПЗ.1/ЛКПЗ.1*), тогда как генотип ОНП, который указывает на дикий тип/генетический контрольный сорт (где отсутствует фрагмент интрогрессии), это, например, 'СС' (*∂m/∂m*). Его также можно записать как генотип АХ' (*ЛКПЗ.1/∂m*) или «АА» (*ЛКПЗ.1/ЛКПЗ.1*), при этом генотип ОНП, указывающий на дикий тип/генетический контрольный сорт (отсутствие фрагмента интрогрессии), представлен, например, 'ХХ' (*∂m/∂m*). Х может быть представлен любым нуклеотидом (А, Т, С или G). Таким образом, когда речь идет о растении или части растения (например, клетке), содержащей фрагмент интрогрессии в гомозиготной или гетерозиготной форме, подразумевается, что маркеры ОНП, связанные с фрагментом интрогрессии, имеют соответствующий генотип или гаплотип ОНП.

Соответственно, в одном аспекте предусмотрено посевное растение *Cucumis sativus* сорт *sativus*, содержащее фрагмент интрогрессии хромосомы 3 в гомозиготной или гетерозиготной форме, причем указанный фрагмент интрогрессии обеспечивает увеличение резистентности к ToLCNDV-ES по сравнению с растением огурца, лишенным фрагмента интрогрессии на хромосоме 3, например, генетическим контрольным сортом или контрольным сортом при выращивании в аналогичных условиях.

Повышение резистентности к ToLCNDV-ES фенотипически выражается в виде более высокого среднего индекса заболеваемости (меньшее пожелтение, измеренное, например, по результатам анализа заболеваемости, как описано в настоящей заявке) линии или сорта растений посевного огурца, содержащих фрагмент интрогрессии на хромосоме 3 в гомозиготной или гетерозиготной форме по сравнению с генетической контрольной линией или сортом, лишенным фрагмента интрогрессии на хромосоме 3 при выращивании в той же среде. Средний индекс заболеваемости предпочтительно возрастает, по меньшей мере, на 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0 или более баллов по шкале заболеваемости с 2,0 (для 90 - 100% площади листьев характерны симптомы мозаики пожелтения) до 9,0 (отсутствие симптомов). Так, например, если ЛКПЗ.1 вводится в

восприимчивую линию или сорт огурца, имеющий средний индекс заболеваемости порядка 4,0, введение ЛКПЗ.1 предпочтительно повышает средний индекс заболеваемости в среднем до, по меньшей мере, 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0 или более. Поскольку было установлено, что ЛКПЗ.1 является аддитивным, эффект ЛКПЗ.1 в гетерозиготной форме меньше, чем эффект в гомозиготной форме. Таким образом, влияние на резистентность к ToLCNDV-ES предпочтительно измеряют, когда он представлен в гомозиготной форме.

Известно, что все четыре ЛКП вместе в гомозиготной форме (ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКПЗ.1) дают средний индекс заболеваемости на уровне 9,0 при введении в восприимчивое растение, имеющее средний индекс заболеваемости порядка 4,0 – 5,0. Влияние отдельных ЛКП, даже в гомозиготной форме, будет меньше, чем комбинированный эффект, но все равно будет проявляться в плане снижения симптомов ToLCNDV-ES. Влияние одного ЛКПЗ.1 определяется путем введения одного ЛКП в восприимчивое растение огурца в гетерозиготной или предпочтительно в гомозиготной форме. Например, NCIMB43745 можно скрестить с восприимчивым растением, а в восприимчивый фон можно перенести один только ЛКПЗ.1.

Таким образом, растения по изобретению содержат геном посевного огурца, по меньшей мере, с одной или двумя рекомбинантными хромосомами, а именно с одной или двумя рекомбинантными хромосомами 3 (т.е. гетерозиготной или гомозиготной). Рекомбинантные хромосомы содержат фрагмент дикого огурца-донора, который легко отличить от генома посевного огурца с помощью анализа молекулярных маркеров, полногеномного секвенирования, окраски хромосом и аналогичных методов.

В одном аспекте, фрагмент интрогрессии на хромосоме 3 от дикого или примитивного огурца, содержит ToLCNDV-ES ЛКП2.1, или его вариант, и включает в себя всю или часть участка, начинающегося на нуклеотиде ОНП_48 и заканчивающегося на ОНП_62. Таким образом, фрагмент интрогрессии содержит ЛКПЗ.1 или его вариант и один, несколько, или все (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15) ОНП – маркеры дикого донора, выбранные из ОНП_48 - ОНП_62, как указано в Таблице 4.

В одном аспекте, фрагмент интрогрессии содержит ЛКПЗ.1 и одну, несколько или все SEQ ID NO: 48 - SEQ ID NO: 62.

В одном аспекте, присутствие фрагмента интрогрессии на хромосоме 3, содержащей ЛКПЗ.1 в геноме растения, или клетке растения, или ткани растения (или в ДНК, извлеченной из него) обнаруживается с помощью анализа молекулярных маркеров, который позволяет обнаружить один или более молекулярных маркеров фрагмента интрогрессии, особенно гаплотип или генотип ОНП донора для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более ОНП_48 - ОНП_62, на нуклеотиде 51 от SEQ ID NO: 48 до 62, соответственно. Однако, как уже указывалось ранее, могут быть использованы и другие методы, например, генотип ОНП маркеров также может определяться путем секвенирования или с использованием альтернативных маркеров, расположенных в промежуточном положении маркеров ОНП, предусмотренных по тексту настоящей заявки, или в пределах 7 сМ, или в пределах 5 сМ от маркера, предусмотренного настоящей заявкой; или в пределах 5 Мб, 3 Мб, 2,5 Мб, 2 Мб, 1 Мб, 0,5 Мб, 0,4 Мб, 0,3 Мб, 0,2 Мб, 0,1 Мб, 50 КБ, 20 КБ, 10 КБ, 5 КБ, 2 КБ, 1 КБ или менее от маркера, предусмотренного настоящей заявкой.

В одном аспекте, присутствие фрагмента интрогрессии на хромосоме 3, содержащей ЛКПЗ.1 в геноме растения, или клетке растения, или ткани растения (или в ДНК, извлеченной из него) можно обнаружить путем обнаружения присутствия одной или более или всех последовательностей SEQ ID NO: 48 - SEQ ID NO: 62.

Ссылка по тексту настоящей заявки на один или более молекулярных маркеров или последовательностей, которые «обнаруживаются», например, посредством анализа молекулярных маркеров, во всех случаях означает, что растение или часть растения содержит один или более маркеров или последовательностей в своем геноме, поскольку в противном случае маркер или последовательность не были бы обнаружены.

Растения огурца, содержащие фрагмент интрогрессии на хромосоме 3 (ЛКП 3.1) или его вариант

В одном аспекте, культурное растение *Cucumis sativus* сорт *sativus*, содержащее фрагмент интрогрессии дикого или примитивного огурца на хромосоме 3 в

гомозиготной или гетерозиготной форме, при этом указанный фрагмент интрогрессии включает в себя локус количественного признака (ЛКП), расположенный между маркером однонуклеотидного полиморфизма ОНП_48 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 48 (или на нуклеотиде 51 варианта SEQ ID NO: 48) и маркером однонуклеотидного полиморфизма ОНП_62 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 62 (или на нуклеотиде 51 варианта SEQ ID NO: 62), при этом данный ЛКП обеспечивает повышение резистентности к ToLCNDV-ES. В одном аспекте, ЛКП расположен между основанием 3637 (ОНП_48) и основанием 3885803 (ОНП_62) хромосомы 3.

Таким образом, в одном аспекте ЛКП3.1 расположен в области между ОНП_48 в SEQ ID NO: 48 (или ее варианте) и ОНП_62 в SEQ ID NO: 62 (или ее варианте).

Таким образом, в одном аспекте предусмотрено посевное растение *Cucumis sativus* сорт *sativus*, содержащее фрагмент интрогрессии на хромосоме 3 в гомозиготной или гетерозиготной форме, причем указанный фрагмент интрогрессии обеспечивает повышение резистентности к ToLCNDV-ES (по сравнению с растением, лишенным фрагмента интрогрессии, например генетическим контрольным сортом), и причем указанный фрагмент интрогрессии включает в себя гаплотип маркера ОНП или генотип не менее 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 маркеров ОНП, выбранных из группы, состоящей из:

- a) АХ или АА генотип для маркера ОНП_48 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 48 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- b) СХ или СС генотип для маркера ОНП_49 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 49 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- c) СХ или СС генотип для маркера ОНП_50 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 50 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- d) СХ или СС генотип для маркера ОНП_51 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 51 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- e) ТХ или ТТ генотип для маркера ОНП_52 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 52 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);

- f) CX или CC генотип для маркера ОНП_53 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 53 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- g) CX или CC генотип для маркера ОНП_54 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 54 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- h) CX или CC генотип для маркера ОНП_55 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 55 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- i) GX или GG генотип для маркера ОНП_56 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 56 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- j) CX или CC генотип для маркера ОНП_57 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 57 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- k) TX или TT генотип для маркера ОНП_58 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 58 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- l) TX или TT генотип для маркера ОНП_59 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 59 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- m) GX или GG генотип для маркера ОНП_60 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 60 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- n) AX или AA генотип для маркера ОНП_61 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 61 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- o) AX или AA генотип для маркера ОНП_62 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 62 (или на нуклеотиде 51 в его варианте).

При указании ОНП в альтернативной последовательности данная вариантная последовательность, по меньшей мере, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична указанной последовательности. X обозначает любой нуклеотид последовательности на другой хромосоме 3 пары хромосом. В одном аспекте X может быть нуклеотидом рекуррентного родителя, как описано в Таблице 4.

В одном аспекте, указанные, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 маркеров являются последовательными маркерами.

Фрагмент, содержащий ЛКПЗ.1, таким образом, может быть большим (содержать ОНП_48 - ОНП_62), а может быть меньшим и не содержать маркеров, имеющих генотип или гаплотип дикого огурца (т.е. маркеры вместо этого имеют генотип или гаплотип посевного огурца, см. также таблицу 4, ОНП-гаплотип рекуррентного родителя), при этом он все же может обеспечивать повышенную резистентность растения посевного огурца к ToLCNDV-ES, т.е. он все еще может содержать аллель ToLCNDV-ES (ЛКПЗ.1 или вариант). Такие меньшие фрагменты интрогрессии представляют собой вариант осуществления изобретения. Растения, имеющие меньшие фрагменты интрогрессии, которые тем не менее обеспечивают повышение резистентности к ToLCNDV-ES (т.е. содержат аллель резистентности), могут быть получены с использованием известных методов, таких как точное картирование или аналогичные методы. Например, начиная с растения, содержащего фрагмент интрогрессии, обнаруженный в семенах, депонированных под идентификационным номером NCIMB 43745, и скрещивая такое растение с другим растением посевного огурца и самоопыляя потомство от указанного скрещивания, и/или проводя обратное скрещивание потомства с тем, чтобы получить популяцию растений, которые могут содержать рекомбинанты, имеющие меньший фрагмент интрогрессии на хромосоме 3, при этом указанные фрагменты, тем не менее, обеспечивают повышенную резистентность к ToLCNDV-ES по сравнению с растением, которое не содержит фрагмент интрогрессии (такого как генетический контрольный сорт, например, растения, выращенные из семян, депонированных под номером NCIMB42344), например фрагмент, содержащий маркеры ОНП_48 - ОНП_52, или ОНП_52 - ОНП_57, или ОНП_57 - ОНП_62, или ОНП_50 - ОНП_59. Для определения размера меньшего фрагмента интрогрессии можно использовать метод маркерного анализа. Могут отсутствовать один или более маркеров ОНП с генотипом или гаплотипом дикого огурца-донора. После этого по указанным ОНП-маркерам выявляют генотип или гаплотип посевного огурца. Резистентность к ToLCNDV-ES растений, содержащих указанный меньший фрагмент интрогрессии, затем можно сравнить с помощью анализа заболеваемости, как описано по тексту настоящей заявки, т.е. путем выращивания множества растений, содержащих меньший фрагмент интрогрессии, в экспериментах вместе с подходящими контрольными растениями,

которые не содержат фрагмент интрогрессии. Контрольные растения предпочтительно представляют собой генетические контрольные сорта, такие как NCIMB43744. Если средний балл заболевания ToLCNDV-ES остается значительно выше, чем в контроле, то меньший фрагмент интрогрессии сохранил ЛКПЗ.1

В некоторых случаях, тот же ЛКП или его вариант (ЛКПЗ.1 или вариант ЛКПЗ.1) может быть интрогрессирован из разных образцов дикого донора, при этом в некоторых случаях могут присутствовать не все маркеры ОНП, предусмотренные по тексту настоящей заявки, т.е. гаплотип ОНП донорского образца может быть только идентичен гаплотипу ОНП ЛКПЗ.1, присутствующему в семенах NCIMB43745 для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более маркеров ОНП. Такие альтернативные доноры дикого огурца можно идентифицировать с использованием маркеров ОНП, предусмотренных настоящей заявкой, путем скрининга зародышевой плазмы (т.е. образцов) дикого или примитивного огурца с использованием маркерного анализа для обнаружения генотипа или гаплотипа одного или более маркеров ОНП_48 - ОНП_62, или маркеров ОНП_48 - ОНП_52, ОНП_52 - ОНП_57, ОНП_57 - ОНП_62 или ОНП_50 - ОНП_59, или даже меньшей подгруппы указанных маркеров (например, 2, 3 или 4). Например, в Таблице 4 представлены различные доноры (PI605996, CGN22263 и CGN22932, также известные как PI197087), которые имеют одинаковый гаплотип ОНП для ОНП_48 - ОНП_62. Таким же образом могут быть идентифицированы и другие доноры, содержащие ЛКПЗ.1 или его вариант. Растения, содержащие ЛКПЗ.1 или его вариант от указанных доноров или получившие его из других источников, также представляют собой вариант осуществления изобретения. Таким образом, при условии, что хотя бы 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более (или все) ОНП ОНП_48 - ОНП_62, или ОНП_48 - ОНП_52, или ОНП_52 - ОНП_57, или ОНП_57 - ОНП_62 или ОНП_50 - ОНП_59 присутствуют, донор может содержать ЛКПЗ.1 (или его вариант) и охватывается настоящей заявкой. Затем специалист в данной области может выполнить интрогрессию ЛКПЗ.1 (или его варианта) в посевной огурец с тем, чтобы повысить резистентность к ToLCNDV-ES, как описано по тексту настоящей заявки, и подтвердить, что ЛКП повышает резистентность к ToLCNDV-ES, если он присутствует в посевном огурце. Перед интрогрессией дикий донор также может быть проверен на резистентность к ToLCNDV-ES в рамках анализа, как описано выше, и,

например, может быть выбран донор, имеющий средний индекс заболеваемости ToLCNDV-ES, например, по меньшей мере, 7,5, 8,0, 8,5 или 9,0.

Как указано выше, в одном варианте осуществления растение посевного огурца по настоящему изобретению содержит фрагмент интрогрессии, содержащий, по меньшей мере, подмножество ОНП-маркеров с генотипом (или гаплотипом) дикого огурца-донора, т.е. не менее 5, 6, 7, 8, 9 или более маркеров ОНП_48 - ОНП_62, или не менее 3 маркеров ОНП_48 - ОНП_52, или ОНП_52 - ОНП_57, или ОНП_57 - ОНП_62, или ОНП_50 - ОНП_59. В одном аспекте растение посевного огурца содержит все или все, кроме 1 или 2 маркеров ОНП_48 - ОНП_62, или ОНП_48 - ОНП_52, или ОНП_52 - ОНП_57, или ОНП_57 - ОНП_62, или ОНП_50 - ОНП_59.

Таким образом, фрагмент интрогрессии (и растения или части растения посевного огурца, например, клетки, содержащей фрагмент интрогрессии) можно обнаружить в рамках маркерного анализа путем обнаружения генотипа ОНП или гаплотипа фрагмента интрогрессии (т.е. зародышевой плазмы дикого огурца) одного, нескольких или всех вышеуказанных маркеров, предпочтительно, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8 или более.

Таким образом, в одном аспекте было установлено, что локус количественного признака (ЛКПЗ.1) присутствует на хромосоме 3 донора дикого огурца, который при переносе (интрогрессии) в сорт или селекционную линию посевного огурца, а также при присутствии в гетерозиготной или гомозиготной форме, значительно повышает резистентность растения посевного огурца к ToLCNDV-ES. ЛКП, или фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКП (содержащий аллель резистентности к ToLCNDV), является, таким образом, аддитивным, т.е. достаточно иметь фрагмент интрогрессии на одной из хромосом 3 (одной рекомбинантной хромосоме 1), при этом гомологичная хромосома 3 пары может быть (нерекомбинантной) хромосомой 3 посевного *C. sativus* сорт *sativus*, у которого отсутствует фрагмент интрогрессии.

Несмотря на то, что текущий источник ЛКПЗ.1, который использовался для картирования и интрогрессии ЛКП, является единственным специфическим диким источником, существуют и другие дикие образцы, которые содержат ЛКПЗ.1 в том же локусе на хромосоме 3. Например, было установлено, что дикие образцы PI605996,

CGN22263 и CGN22932, также известные как PI197087, содержат один и тот же гаплотип ОНП для маркеров ОНП_48 - ОНП_62 (как указано в Таблице 3) и демонстрируют резистентность к ToLCNDV-ES. Таким образом, (вариант) ЛКПЗ.1 от тех или иных доноров может быть интрогрессирован в посевной огурец, в некоторых случаях в комбинации с одним или несколькими локусами ЛКП1.1, ЛКП1.2 и ЛКП2.1. Аналогично, другие образцы диких или примитивных огурцов могут быть проверены на наличие гаплотипа ОНП или генотипа одного, нескольких или всех ОНП_48 - ОНП_62.

Такие другие доноры могут содержать аллель резистентности к ToLCNDV-ES, который имеет немного другие нуклеотидные последовательности, т.е. варианты аллеля (ЛКПЗ.1), предусмотренные по тексту настоящей заявки. Такие варианты ЛКП также можно идентифицировать и интрогрессировать в посевной огурец, как описано по тексту настоящей заявки, для получения растения посевного огурца, содержащего геном посевного огурца *C. sativus* сорт *sativus* и рекомбинантную хромосому 3, отличающегося тем, что рекомбинантная хромосома 3 содержит фрагмент интрогрессии, который обеспечивает повышенную резистентность растения посевного огурца к ToLCNDV-ES, когда он представлен в гомозиготной или гетерозиготной форме. Для того, чтобы идентифицировать указанные образцы диких доноров, содержащих ЛКПЗ.1, можно провести скрининг диких образцов, например, путем анализа маркеров или сравнения последовательностей или других методов на наличие одного или более ОНП-маркеров, предусмотренных настоящей заявкой. Предполагаемый ЛКП (или вариант ЛКП) затем может быть интрогрессирован в посевной огурец, например, с использованием MAS, т.е. с использованием одного или более (или всех) ОНП-маркеров, предусмотренных настоящей заявкой, для обнаружения и/или селекции растений-потомков (например, растений обратного скрещивания), содержащих рекомбинантную хромосому 3. Прошедшие селекцию растения, т.е. растения посевного огурца, содержащие фрагмент интрогрессии хромосомы 3, отличающиеся тем, что фрагмент интрогрессии хромосомы 3 выявляется с помощью 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более ОНП-маркеров ОНП_48 - ОНП_62, которые затем могут быть фенотипированы в рамках анализа заболеваемости ToLCNDV-ES вместе с подходящими контрольными растениями, предпочтительно,

по меньшей мере, с генетическими контрольными растениями для того, чтобы определить, действительно ли фрагмент интрогрессии вызывает значительное увеличение резистентности к ToLCNDV-ES.

Образцы дикого или примитивного огурца можно получить, например, из коллекции семян Национальной системы зародышевой плазмы растений Министерства сельского хозяйства США или других коллекций семян, и, таким образом, их можно проверить на наличие ЛКПЗ.1, используя, например, маркерный анализ, как описано в настоящем документе, и образцы, содержащие 5 или более маркеров ОНП (например, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более маркеров ОНП, указывающих на ЛКПЗ.1 или его вариант), можно скрещивать с растением посевного огурца, содержащим нормальные нерекомбинантные хромосомы 3 дикого типа. Поколение F1 или F2 (или дальнейшее поколение, такое как поколение F3 или поколение обратного скрещивания) может затем подвергаться скринингу на наличие рекомбинантных растений, содержащих фрагмент интрогрессии или его часть, с использованием анализа молекулярных маркеров, описанных по тексту настоящей заявки.

В одном аспекте, фрагмент интрогрессии получен от донора, содержащего гаплотип ОНП для ЛКПЗ.1, как указано в Таблице 4 для интрогрессионного донора (NCIMB43745), PI605996, CGN22263 или CGN22932, также именуемого PI197087.

В конкретном варианте осуществления фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКПЗ.1 (или его вариант) для ToLCNDV-ES, может быть получен из или выведен из или сформирован из; или присутствует в) семян(-ах), репрезентативный образец которых был депонирован под идентификационным номером NCIMB 43745, или из его потомства, или из семян, имеющих идентификационный номер PI605996 (коллекция USDA ARS-GRIN), или из семян, имеющих идентификационный номер CGN22263 или CGN22932 (коллекция Wageningen CGN), или из семян, имеющих идентификационный номер PI197087 (USDA) коллекции ARS-GRIN) или от потомков любого из них. Потомство может представлять собой любое потомство, которое сохраняет маркеры ОНП или гаплотип, указывающий на ЛКП (и связанный с ним), как указано в тексте. Таким образом, потомство не ограничивается потомством F1 или F2

депозита или образца, но может представлять собой любое потомство, независимо от того, получено ли оно путем самоопыления и/или скрещивания с другим растением огурца.

В одном варианте осуществления фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКПЗ.1 (или вариант), можно идентифицировать с помощью одного или нескольких маркеров, описанных в других разделах настоящей заявки, особенно маркеров ОНП_48 - ОНП_62 для фрагмента интрогрессии на хромосоме 3 или подмножества маркеров, таких как один или несколько маркеров, выбранных из маркеров ОНП_48 - ОНП_52, или ОНП_52 - ОНП_57, или ОНП_57 - ОНП_62, или ОНП_50 - ОНП_59. В одном аспекте изобретение относится к растению посевного огурца, имеющему геном посевного (одомашненного) огурца, который обладает повышенной резистентностью к ToLCNDV-ES, при этом повышенная резистентность обеспечивается за счет фрагмента интрогрессии на хромосоме 3 посевного огурца, причем указанный фрагмент интрогрессии получают путем скрещивания культурного растения, выращенного из семян, депонированных под номером NCIMB 43745, или потомства такого растения (которое содержит один или несколько описываемых по тексту настоящей заявки маркеров, связанных с ЛКП) с растением посевного огурца. Таким образом, в одном аспекте растение посевного огурца по настоящему изобретению содержит тот же фрагмент интрогрессии и ту же рекомбинантную хромосому 3, что и представленные в NCIMB 43745 (содержащий весь гаплотип дикого донора для ОНП-маркеров ОНП_48 - ОНП_62 или содержащий SEQ ID NO: от 48 до 62), или содержит более короткий фрагмент указанного фрагмента интрогрессии, отличающегося тем, что короткий фрагмент сохраняет генетический элемент, придающий резистентность к ToLCNDV-ES (ЛКПЗ.1).

Таким образом, в одном аспекте изобретение относится к растению по изобретению, т.е. посевному *Cucumis sativus* сорт *sativus*, содержащему фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКПЗ.1 от дикого огурца на хромосоме 3 в гомозиготной или гетерозиготной форме, причем указанный фрагмент интрогрессии представляет собой фрагмент интрогрессии «как в» / «идентичный» / «такой же, как в» семенах, депонированных под номером NCIMB 43745, или является его более коротким

фрагментом, но при этом также придает повышенную резистентность к ToLCNDV благодаря присутствию ЛКПЗ.1.

Поскольку SEQ ID NO: 48 – 62 принадлежат дикому донору, использованному для получения NCIMB43745, они могут использоваться для идентификации фрагмента интрогрессии или субфрагментов конкретного донора.

В еще одном варианте изобретение относится к растению по изобретению, т.е. растение посевного огурца *Cucumis sativus* сорт *sativus*, содержащее фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКПЗ.1 дикого огурца на хромосоме 3 в гомозиготной или гетерозиготной форме, причем указанный фрагмент интрогрессии является фрагментом интрогрессии, который представляет собой вариант фрагмента интрогрессии семян, депонированных под номером NCIMB 43745, т.е. содержит ЛКПЗ.1, при этом геномная последовательность может быть другой. Поскольку дикие образцы будут генетически дивергентными, геномная последовательность фрагмента интрогрессии, содержащего ЛКПЗ.1 из других диких или примитивных огурцов, скорее всего, не будет идентична геномной последовательности, интрогрессированной в NCIMB 43745, и даже ген, передающий резистентность к ToLCNDV-ES (включая промоторы, интроны и экзоны) может отличаться по нуклеотидной последовательности, при этом функция будет той же, т.е. обеспечение повышенной резистентности. Расхождение проявляется в том, что некоторые маркеры ОНП, связанные с ЛКПЗ.1, обычно встречаются в различных образцах, в то время как другие маркеры ОНП могут быть обнаружены только в определенных образцах. Так, например, не все ОНП_48 – ОНП_62 можно обнаружить у других доноров дикого огурца. Например, образец может иметь немного отличающийся гаплотип ОНП для ОНП_48 - ОНП_62, с одним или двумя маркерами ОНП, имеющими разные нуклеотиды. При этом ЛКПЗ.1 (содержащий, например, вариант или ортолог аллеля резистентности к ToLCNDV-ES) по-прежнему может присутствовать в таких диких образцах. Специалист в данной области способен идентифицировать и выполнить интрогрессию области, содержащей ЛКПЗ.1, встречающуюся у других доноров дикого огурца, в посевной огурец, например, путем обнаружения диких образцов, содержащих маркеры ОНП или их подмножество, и переноса таких маркеров ОНП (или подмножества) в линию или сорт посевного огурца, и выполнив оценку

резистентности культивируемой линии или сорта к ToLCNDV-ES по сравнению с линией или сортом, не имеющими маркеров ОНП (или их подмножества), т.е. линией или сортом, у которых отсутствует фрагмент интрогрессии. Даже в тех случаях, когда гаплотип ОНП для ОНП_48 - ОНП_62 идентичен ОНП-гаплотипу ЛКПЗ.1, встречающемуся в семенах NCIMB 43745, фактические нуклеотидные последовательности, фланкирующие ОНП на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 48 – 62 у других доноров могут отличаться. Таким образом, другие доноры могут содержать тот же нуклеотид ОНП на нуклеотиде 51, но в последовательности, которая, по меньшей мере, на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична последовательности SEQ ID NO: 48 – 62, в случае, например, попарного выравнивания. Данную вариацию можно увидеть путем секвенирования доноров и выравнивания последовательностей SEQ ID NO: 48 - SEQ ID NO: 62 с указанной последовательностью.

В одном варианте осуществления наличие фрагмента интрогрессии, содержащей ЛКПЗ.1, или область хромосомы 3 (вариант или ортологическую область хромосомы 3), содержащей ЛКПЗ.1, обнаруживается с помощью анализа молекулярных маркеров, который позволяет выявить, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 маркеров однонуклеотидного полиморфизма (ОНП), выбранных из группы, состоящей из:

- a) АХ или АА генотип для маркера ОНП_48 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 48 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- b) СХ или СС генотип для маркера ОНП_49 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 49 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- c) СХ или СС генотип для маркера ОНП_50 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 50 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- d) СХ или СС генотип для маркера ОНП_51 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 51 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- e) ТХ или ТТ генотип для маркера ОНП_52 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 52 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);

- f) CX или CC генотип для маркера ОНП_53 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 53 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- g) CX или CC генотип для маркера ОНП_54 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 54 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- h) CX или CC генотип для маркера ОНП_55 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 55 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- i) GX или GG генотип для маркера ОНП_56 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 56 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- j) CX или CC генотип для маркера ОНП_57 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 57 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- k) TX или TT генотип для маркера ОНП_58 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 58 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- l) TX или TT генотип для маркера ОНП_59 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 59 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- m) GX или GG генотип для маркера ОНП_60 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 60 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- n) AX или AA генотип для маркера ОНП_61 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 61 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- o) AX или AA генотип для маркера ОНП_62 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 62 (или на нуклеотиде 51 в его варианте).

В одном аспекте, указанные, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 маркеров, которые выявлены, являются последовательными маркерами.

Таким образом, в одном варианте осуществления растения согласно изобретению содержат, по меньшей мере, Аденин (A) (т.е. AA или AX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 48 (именуемый ОНП_48) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:48 (другими словами, это Аденин в физическом положении хромосомы 3, показанном в Таблице 4);

и/или, по меньшей мере, Цитозин (С) (т.е. СС или СХ генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 49 (именуемый ОНП_49) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:49 (другими словами, это Цитозин в физическом положении хромосомы 3, показанном в Таблице 4);

и/или, по меньшей мере, Цитозин (С) (т.е. СС или СХ генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 50 (именуемый ОНП_50) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:50 (другими словами, это Цитозин в физическом положении хромосомы 3, показанном в Таблице 4);

и/или, по меньшей мере, Цитозин (С) (т.е. СС или СХ генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 51 (именуемый ОНП_51) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:51 (другими словами, это Цитозин в физическом положении хромосомы 3, показанном в Таблице 4);

и/или, по меньшей мере, Тиамин (Т) (т.е. ТТ или ТХ генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 52 (именуемый ОНП_52) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:52 (другими словами, это Тиамин в физическом положении хромосомы 3, показанном в Таблице 4);

и/или, по меньшей мере, Цитозин (С) (т.е. СС или СХ генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 53 (именуемый ОНП_53) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:53 (другими словами, это Цитозин в физическом положении хромосомы 3, показанном в Таблице 4);

и/или, по меньшей мере, Цитозин (С) (т.е. СС или СХ генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 54 (именуемый ОНП_54) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:54 (другими словами, это Цитозин в физическом положении хромосомы 3, показанном в Таблице 4);

и/или, по меньшей мере, Цитозин (C) (т.е. CC или CX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 55 (именуемый ОНП_55) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:55 (другими словами, это Цитозин в физическом положении хромосомы 3, показанном в Таблице 4);

и/или, по меньшей мере, Гуанин (G) (т.е. GG или GX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 56 (именуемый ОНП_56) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:56 (другими словами, это Гуанин в физическом положении хромосомы 3, показанном в Таблице 4);

и/или, по меньшей мере, Цитозин (C) (т.е. CC или CX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 57 (именуемый ОНП_57) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:57 (другими словами, это Цитозин в физическом положении хромосомы 3, показанном в Таблице 4);

и/или, по меньшей мере, Тиамин (T) (т.е. TT или TX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 58 (именуемый ОНП_58) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:58 (другими словами, это Тиамин в физическом положении хромосомы 3, показанном в Таблице 4);

и/или, по меньшей мере, Тиамин (T) (т.е. TT или TX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 59 (именуемый ОНП_59) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:59 (другими словами, это Тиамин в физическом положении хромосомы 3, показанном в Таблице 4);

и/или, по меньшей мере, Гуанин (G) (т.е. GG или GX генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 60 (именуемый ОНП_60) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:60 (другими словами, это Гуанин в физическом положении хромосомы 3, показанном в Таблице 4);

и/или, по меньшей мере, Аденин (А) (т.е. АА или АХ генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 61 (именуемый ОНП_61) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:61 (другими словами, это Аденин в физическом положении хромосомы 3, показанном в Таблице 4);

и/или, по меньшей мере, Аденин (А) (т.е. АА или АХ генотип) на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 62 (именуемый ОНП_62) или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:62 (другими словами, это Аденин в физическом положении хромосомы 3, показанном в Таблице 4).

В еще одном варианте осуществления наличие фрагмента интрогрессии или области хромосомы 3 (или варианта или ортологической области хромосомы 3), содержащей ЛКПЗ.1, можно обнаружить с помощью анализа молекулярных маркеров, который выявляет, по меньшей мере, 3, 4 или 5 маркеров однонуклеотидного полиморфизма (ОНП) в составе подгрупп, состоящих из: ОНП_48 - ОНП_52; ОНП_52 - ОНП_57; ОНП_57 - ОНП_62 или ОНП_50 - ОНП_59.

Генотип ОНП обозначает два нуклеотида и геномные последовательности, содержащие один из этих двух нуклеотидов, по одному на каждой хромосоме 3. Так, растение, имеющее генотип АА по ОНП_48, имеет идентичный нуклеотид (А) на обеих хромосомах (т.е. является гомозиготным), а растение, имеющее генотип АХ по ОНП_48, имеет одну хромосому с А на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 48 (или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:48) и одну хромосому Х на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 48 (или на эквивалентном нуклеотиде геномной последовательности, содержащей значительную степень идентичности последовательности с SEQ ID NO:48) и является гетерозиготным, при этом Х может представлять собой любой нуклеотид. Поскольку геномные последовательности вокруг маркеров ОНП, указанные по тексту настоящей заявки, могут незначительно отличаться во фрагментах интрогрессии от других доноров дикого огурца (т.е. варианты или ортологичные области хромосомы 3), очевидно, что нуклеотидные

последовательности до и после ОНП не могут быть на 100% идентичны последовательностям, представленным в настоящей заявке. Таким образом, настоящей заявкой предусмотрены последовательности, которые в значительной степени идентичны (т.е., по меньшей мере, на 95%) последовательностям, предусмотренным настоящей заявкой, и при этом содержат ОНП.

В одном аспекте фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКПЗ.1 или область хромосомы 3 (или вариант или ортологическую область хромосомы 3), содержащую ЛКП (ЛКПЗ.1 или его вариант), который выявляется с помощью одного или более указанных выше маркеров, от дикого или примитивного огурца, и в одном аспекте дикий или примитивный огурец относится к индийской группе огурцов. В одном аспекте это тот же фрагмент интрогрессии, который обнаружен на хромосоме 3 в семенах, депонированных под идентификационным номером NCIMB 43745, или меньший фрагмент, сохраняющий ЛКП. Маркеры ОНП ОНП_48 – ОНП_62 охватывают область размером порядка 4 Мб. В одном аспекте размер фрагмента интрогрессии хромосомы 3 не превышает 4 Мб, предпочтительно не превышает 3,9 Мб, более предпочтительно не превышает 3,8, 3,0 или 2,5 Мб по размеру, например, не превышает 2 Мб. В одном аспекте фрагмент интрогрессии имеет размер не менее 0,2 Мб, 0,5 Мб, 1,0 Мб, 1,5 Мб, 1,9 Мб, 2,0 Мб, 2,5 Мб, 2,7 Мб или 3 Мб. Таким образом, в настоящую заявку включены различные диапазоны размеров интрогрессии, такие как фрагменты размером менее 4 Мб, но более 0,2 Мб, менее 3,9 Мб или 3 Мб, но более 0,2 Мб, 0,5 Мб или 1 Мб и т.д., которые содержат ЛКПЗ.1 и один или более ОНП-маркеров ОНП_48 - ОНП_62 или подгрупп ОНП_48 - ОНП_52; ОНП_52 - ОНП_57; ОНП_57 – ОНП_62 или ОНП_50 – ОНП_59. Как указывалось выше, местоположение ЛКПЗ.1 в области, охватывающей ОНП_48 - ОНП_62, может быть определено с помощью точного картирования и рекомбинантов, содержащих ЛКПЗ.1 на меньшем фрагменте интрогрессии. Размер фрагмента интрогрессии можно без труда определить, например, путем полногеномного секвенирования или секвенирования следующего поколения, как, например, описано в работе *Qi et al.* 2013 (см. выше) или в *Huang et al.* 2009 г. (см. выше). Области интрогрессии особенно легко можно отличить от культивируемых геномных областей из-за большего количества генетических вариаций (ОНП, вставок/делеций и т.д.) в области интрогрессии.

Для получения фрагмента интрогрессии на хромосоме 3 (содержащего ЛКПЗ.1) из депонированных семян (NCIMB43745), т.е. для переноса фрагмента интрогрессии, содержащего ЛКП, в другое растение посевного огурца, растение выращивают из семени и скрещивают с растением посевного огурца для получения семян F1. Поскольку NCIMB43745 содержит две рекомбинантные хромосомы 3 (включающие в себя фрагмент интрогрессии), все семена F1 и растения, выращенные из них, содержат одну рекомбинантную хромосому 3 от родителя NCIMB43745 и одну нерекомбинантную хромосому 3 от другого культивируемого родителя. Таким образом, путем традиционной селекции можно перенести рекомбинантную хромосому 3 из NCIMB43745 в другие культивируемые линии или сорта огурца. Растения, которые содержат ЛКПЗ.1, можно подвергать скринингу и селекции по наличию одного или более вышеуказанных ОНП-маркеров с тем, чтобы идентифицировать растения, содержащие рекомбинантную хромосому 3.

Для получения более коротких фрагментов интрогрессии (содержащих ЛКПЗ.1) должен произойти мейоз и должны быть идентифицированы растения, содержащие рекомбинантные хромосомы 3, и особенно новые события мейотической рекомбинации внутри фрагмента интрогрессии. Например, семена NCIMB43745 могут один или более раз подвергаться самоопылению для получения растений F1, F2 или F3 (или дальнейших самоопыляющихся поколений), и/или растений F1, F2 или F3 (и т.д.), содержащие рекомбинантную хромосому 3 и скрещиваться с культурным родителем. Растения, которые содержат рекомбинантную хромосому 3, можно подвергать скринингу и селекции на предмет наличия одного или более из вышеуказанных ОНП-маркеров, что позволит идентифицировать растения, содержащие меньший фрагмент интрогрессии. Такие новые рекомбинанты затем можно тестировать на наличие ЛКПЗ.1 на меньшем фрагменте интрогрессии путем определения среднего индекса заболеваемости в анализе заболеваемости ToLCNDV-ES по сравнению с (генетическим) контрольным растением, лишенным фрагмента интрогрессии.

Аналогичным образом, растения посевного огурца, содержащие ЛКПЗ.1 (или его вариант), могут быть получены и/или идентифицированы с использованием различных методов. Например, чтобы получить растение посевного огурца,

содержащее фрагмент интрогрессии от дикого донора, идентифицируют дикого донора, который содержит один или более ОНП-маркеров, связанных с ЛКПЗ.1, указанных по тексту настоящей заявки, например, один, или более, или все маркеры, указанные выше по тексту настоящей заявки. Это, например, было сделано для различных диких образцов, см. раздел «Примеры». Идентифицированное растение скрещивают с растением посевного огурца для получения семян F1. Из F1 можно самостоятельно получить F2, F3 и т.д. растения, и/или растения F2 или растения F3, и т.д., можно выполнять обратное скрещивание с родительским посевным огурцом. Растения, которые содержат ЛКПЗ.1 (или его вариант), могут подвергаться скринингу и/или селекции по наличию одного или более из указанных выше ОНП-маркеров и/или подвергаться скринингу и/или селекции по фенотипу повышенной резистентности к ToLCNDV-ES по сравнению с исходным культивируемым родителем (без интрогрессий). В некоторых случаях или в дополнение может выполняться картирование ЛКП для идентификации дополнительных молекулярных маркеров, связанных с ЛКПЗ.1 (или его вариантом) и/или получения растений посевного огурца, содержащих фрагмент интрогрессии на хромосоме 3, который в значительной степени повышает резистентность к ToLCNDV-ES.

В одном варианте осуществления наличие фрагмента интрогрессии в растении посевного огурца или области хромосомы 3 (или ортологической области хромосомы 3), содержащей ЛКПЗ.1, можно обнаружить с помощью анализа молекулярных маркеров, который позволяет установить, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более маркеров, выбранных из группы, состоящей из:

- a) AA или AX генотип для маркера ОНП_48 Однонуклеотидного Полиморфизма в SEQ ID NO: 48 (или в его варианте);
- b) AA или AX генотип для маркера ОНП_62 Однонуклеотидного Полиморфизма в SEQ ID NO: 62 (или в его варианте);
- c) любой маркер, специфичный для генома дикого огурца в положении между маркером ОНП_48 и ОНП_62.

В одном аспекте, маркеры, указанные в подпункте c), представляют собой один или более ОНП_49 - ОНП_61. В одном аспекте, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или

более маркеров обнаруживаются из указанных выше маркеров а), b) и/или с). В одном варианте осуществления обнаруживается, по меньшей мере, маркер а) и/или b) и в некоторых случаях, по меньшей мере, один, два, три или более маркеров с). В одном аспекте, обнаруженные маркеры являются последовательными маркерами.

Любой специфичный для генома дикого огурца маркер в промежуточном положении между двумя маркерами относится к любому молекулярному маркеру, который генетически картируется в области хромосомы 1 между двумя маркерами и/или который физически находится между двумя маркерами и указывает на область хромосомы 3 дикого огурца. Это означает, что маркер является полиморфным между геномом посевного огурца и геномом дикого огурца. В одном аспекте маркер представляет собой однонуклеотидный полиморфизм (ОНП), при этом также могут использоваться другие молекулярные маркеры, такие как RFLP, AFLP, RAPD, секвенирование ДНК и т.д.

Фрагмент интрогрессии в растениях по настоящему изобретению находится в одном аспекте фрагмента хромосомы 3 (содержащего ЛКПЗ.1), который присутствует в семенах, депонированных под идентификационным номером NCIMB43745, или уменьшенной версии этого фрагмента, сохраняющего ЛКП (получаемый, например, путем рекомбинации внутри фрагмента интрогрессии).

Фрагмент интрогрессии в одном аспекте имеет размер, который не превышает 4 Мб, предпочтительно не превышает 3,9Мб, 3Мб, 2,5Мб, 2Мб, 1,5Мб, 1Мб. В другом аспекте, фрагмент интрогрессии имеет размер не менее 0,5 МБ или не менее 1 МБ.

Также предусмотрены семена, из которых можно вырастить растение по изобретению, а также плоды огурца, собранные с растения по изобретению и содержащие в своем геноме рекомбинантную хромосому 3 (содержащую ЛКПЗ.1 или вариант). Аналогичным образом предусмотрена растительная клетка, ткань или часть растения или семени, содержащая, по меньшей мере, одну рекомбинантную хромосому 3 (содержащую ЛКПЗ.1 или вариант), отличающаяся тем, что указанная рекомбинантная хромосома 3 содержит фрагмент интрогрессии дикого или примитивного огурца, и указанный фрагмент интрогрессии содержит аллель, обеспечивающий значительное повышение резистентности к ToLCNDV-ES.

Молекулярные маркеры, описанные по тексту настоящей заявки, могут быть обнаружены стандартным методом. Например, маркеры ОНП можно легко обнаружить с помощью анализа KASP (см. www.kpbioscience.co.uk) или других методов генотипирования ОНП. Для подготовки KASP-анализа можно выбрать, например, 50 или 70 пар оснований выше и 50 или 70 пар оснований после ОНП, а также сформировать два аллель-специфичных прямых праймера и один аллель-специфичный обратный праймер. Описание метода KASP приведено, например, в работе Allen et al. 2011 г., *Plant Biotechnology J.* 9, 1086-1099, стр. 097-1098.

Таким образом, в одном аспекте маркеры ОНП и наличие/отсутствие маркера, связанного с ЛКПЗ.1, определяют с использованием анализа KASP, при этом в равной степени можно использовать и другие методы генотипирования ОНП. Например, в равной степени можно использовать генотипирование ОНП TaqMan, анализ кривых плавления с высоким разрешением, массивы генотипирования ОНП (например, Fluidigm, Illumina и т.д.) или секвенирование ДНК.

Физический размер фрагмента интрогрессии может быть определен различными методами, такими как физическое картирование, секвенирование или визуализация интрогрессии с помощью изображений флуоресцентной гибридизации *in situ* (Verlaan et al., 2011 г., *Plant Journal* 68: 1093-1103).

Растения посевного огурца с меньшим фрагментом интрогрессии на хромосоме 3 (содержащий ЛКПЗ.1 или его вариант) можно получить путем создания новых рекомбинантных растений из популяции растений, полученных в результате скрещивания растения посевного огурца (без интрогрессии), растения по изобретению и селекции рекомбинантного потомства с меньшим размером интрогрессии. Таким образом, указанные растения в одном аспекте получены от (потомства или потомков) рекомбинантной хромосомы 3, присутствующей в растениях, семена которых были депонированы под номером NCIMB43745. Настоящая заявка охватывает такое потомство или потомков, которые сохраняют ЛКПЗ.1 и, следовательно, для них характерна более высокая резистентность к ToLCNDV-ES по сравнению с растениями без интрогрессии.

Как указывалось ранее, растения и части растений могут содержать либо отдельные ЛКП в гомозиготной или гетерозиготной форме из группы ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1), либо комбинации двух или более ЛКП в гомозиготной или гетерозиготной форме. В одном аспекте сочетание всех четырех ЛКП в гомозиготной форме обеспечивает резистентность к ToLCNDV-ES на уровне 9,0, т.е. без каких-либо симптомов. Также у указанных растений не обнаруживался вирус ToLCNDV-ES, т.е. для них было характерно отсутствие вируса или уровни вируса были ниже уровня обнаружения по тесту с использованием метода двойных сэндвич-антител - твердофазного ИФА. Для того, чтобы проверить влияние отдельных ЛКП или комбинаций двух или более ЛКП на резистентность к ToLCNDV-ES, необходимо получить линии, содержащие такие ЛКП (или комбинации). Это можно сделать, например, путем переноса ЛКП или их комбинаций, например, из депонированных семян в отдельные фоны, например, с использованием связанных ОНП-маркеров в процессе селекции потомства. После этого резистентность определяют с помощью анализа заболеваемости ToLCNDV-ES, как описано по тексту настоящей заявки. В одном аспекте растение посевного огурца, содержащее один или несколько из четырех ЛКП, имеет средний индекс заболеваемости (по меньшей мере в один момент времени, предпочтительно в два момента времени или три момента времени после инокуляции), не менее 7,5, 7,6, 7,7, 7,8, 7,9, 8,0, 8,1, 8,2, 8,3, 8,4, 8,5, 8,6, 8,9 или 9,0 при тестировании в рамках анализе ToLCNDV-ES, как описано по тексту настоящей заявки. Очевидно, что анализ ToLCNDV-ES во всех случаях должен включать в себя соответствующие контрольные растения, особенно восприимчивые контрольные растения и/или генетические контрольные растения, при этом такие контрольные растения должны демонстрировать ожидаемые для них симптомы и средний индекс заболеваемости, что позволяет понять, что инокуляция оказалась эффективной.

В одном аспекте растения и части растений, которые содержат один или более ЛКП, выбранных из ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1 (или их вариантов), содержат фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКП, который получен или может быть получен из NCIMB 43745, PI605996, CGN22263, CGN22932 или PI197087 или от другого дикого донора, который содержит тот же гаплотип ОНП или генотип ОНП для, в меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 ОНП-маркеров, связанных с

каждым ЛКП. В некоторых случаях, дикий донор имеет средний индекс заболеваемости ToLCNDV-ES (по меньшей мере, в один момент времени, предпочтительно в два или три момента времени после инокуляции), по меньшей мере, на уровне 7,5, 7,6, 7,7, 7,8, 7,9, 8,0, 8,1, 8,2, 8,3, 8,4, 8,5, 8,6, 8,7, 8,8, 8,9 или 9,0.

Растение посевного огурца согласно изобретению может представлять собой инбредную линию, СОО (сорт с открытым опылением) или гибрид F1. В одном аспекте гибрид F1 содержит только одну рекомбинантную хромосому (содержащую фрагмент интрогрессии с ЛКП, выбранным из числа ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1), т.е. гибрид F1 является гетерозиготным по фрагменту интрогрессии и маркеру ОНП, описанному по тексту настоящей заявки. Указанный гибрид F1 получают путем скрещивания двух инбредных родительских линий, одна из которых содержит фрагмент интрогрессии одного или нескольких ЛКП (предпочтительно в гомозиготной форме, хотя и не обязательно) и сбора семян гибрида F1 в результате указанного скрещивания. В другом аспекте гибрид F1 может содержать фрагмент интрогрессии, выбранный из числа ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 в гомозиготной форме, т.е. его получают путем скрещивания двух инбредных родительских линий, каждая из которых содержит фрагмент интрогрессии, выбранный из одного или более ЛКП в гомозиготной форме.

Растение посевного огурца может быть любого типа. Он предпочтительно обладает хорошими сельскохозяйственными характеристиками, а также хорошими качественными характеристиками плодов. Растение посевного огурца в одном аспекте является однородным как генетически, так и фенотипически. Особенно однородны свойства плодов, например, по форме, цвету кожуры, ее толщине, жилкам кожуры, прочности кожуры, колючкам (цвету кожуры, плотности и т.д.), наличию/отсутствию бугорков, длине и диаметру в период съедобной и товарной зрелости, по вкусу и т.д. Аналогично однородными являются и характеристики семян (т.е. характеристики семян, из которых выращено растение), например, по размеру семян, цвету семян и т.д. Таким образом, растения линии или сорта, содержащие один или более ЛКП в гомозиготной или гетерозиготной форме, дают однородные плоды, что означает, что существует небольшая разница между плодами растений, выращенных в одинаковых условиях окружающей среды и когда плоды находятся на одной и той же стадии

развития (например, по качественным признакам не менее 98%, 99% или предпочтительно 100% всех растений или частей растений, плодов или семян идентичны по своим свойствам; по количественным характеристикам не менее 90%, 95%, 98% всех растений или частей растений, плоды или семена идентичны по своим свойствам).

Растение посевного огурца, содержащее один или более ЛКП (или их варианты) по изобретению, может быть любого типа, например, может представлять собой один из следующих типов огурцов: засолочные огурцы (например, американский засолочный, европейский засолочный), салатные огурцы (например, американский салатный), длинные огурцы, короткие огурцы, европейские тепличные огурцы, огурцы Бейт-Альфа, восточные шпалерные огурцы, азиатские огурцы (например, селекционированные из индийского крапчатого огурца, китайского длинного огурца, корейского огурца и японского огурца). В одном аспекте посевной огурец согласно изобретению представляет собой инбредную линию или гибрид F1 засолочных огурцов, салатных огурцов, длинных огурцов, коротких огурцов, европейских тепличных огурцов, огурцов Бейт-Альфа, восточных шпалерных огурцов, китайских длинных огурцов, корейских огурцов или японских огурцов. В конкретном варианте осуществления огурец представляет собой инбредную линию или гибрид F1 европейского тепличного огурца или салатного огурца.

Растение может представлять собой гибрид F1 одного скрещивания или инбредную линию, содержащую один или несколько ЛКП в гомозиготной или гетерозиготной форме. В одном аспекте это гибрид F1, полученный путем скрещивания (инбредного) родительского растения, содержащего один или более ЛКП (или вариант) в гомозиготной форме, с (инбредным) родительским растением, лишенным ЛКП (т.е. лишенным фрагментов интрогрессии, содержащих ЛКП). Таким образом, в одном аспекте гибрид F1 является гетерозиготным по ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1.

В другом аспекте оно представляет собой гибрид F1, полученный путем скрещивания (инбредного) родительского растения, содержащего один или более ЛКП (или его вариантов) в гомозиготной форме, с (инбредным) родительским растением,

которое также содержит один или более ЛКП (или его варианты) в гомозиготной форме. Таким образом, в одном аспекте, гибрид F1 является гомозиготным для ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1.

С одной стороны, гибрид F1 представляет собой тип европейского тепличного огурца, подходящего для традиционного выращивания в теплице или для выращивания на натянутой проволоке. При традиционном методе выращивания в теплице основной стебель растения подводят к горизонтальной железной проволоке, натянутой на высоте около двух метров над землей. Когда растение достигает этой высоты и прикрепляется к проволоке, его «верхушку» удаляют, удаляя точку роста, что позволяет прекратить дальнейшее разрастание, после чего начинают развиваться боковые побеги. Таким боковым побегам дают вырасти вниз на высоту около 1 метра над землей, после чего у них удаляют точки роста. За этим следует цветение и развитие плодов как на стебле, так и на боковых побегах или усиках, при этом плоды на усиках развиваются позже, чем на стебле. Плоды собирают примерно через 6 недель после посева. При выращивании на натянутой проволоке не допускается рост боковых усиков, а весь урожай собирают со стебля. Компания Nunhems вывела конкретные сорта, которые очень подходят для выращивания на проволоке, поскольку содержат ген, именуемый «компактным», см. Заявку WO2009/059777, например сорта Хай-Джек, Хай-Пауэр, Хай-Лиза.

Таким образом, в одном аспекте изобретения растение посевного огурца дополнительно содержит компактный ген, описанный в заявке WO2009/059777. Компактный ген предпочтительно присутствует в гетерозиготной форме.

В другом аспекте один или более фрагментов интрогрессии присутствуют у огурца длинного типа, такого как сорт Касья (Nunhems), который представляет собой сорт длинного огурца, дающий плоды длиной 27-38 см. «Сорт длинного огурца» или «растения длинного огурца» представляют собой тепличные огурцы, для которых характерны плоды длиной, по меньшей мере, от 26 см или 27 см до 37 или 38 см или более (например, 40 см, 42 см или более), предпочтительно с партенокарпическим формированием плодов. Примерами длинных сортов огурцов являются сорта Сабрина и Коринда или растения огурца, которым присваивается 7-9 баллов за длину плода в

соответствии с протоколом Общественной службы по сортоиспытанию Европейского Сообщества (см. пункт 19 в Приложении 1 к настоящему протоколу). Прочие сорта длинных огурцов включают в себя, например, сорта Бodega, Болонья, Камаро, Фламинго, Дискавер, Калунга, Касья, Логика, Миллагон. Никола, Милика, Мануэла, Фрида, Активa, Алайя, Саванна, Сиенна, Белла, Шейла, Борнан.

В одном аспекте огурец представляет собой растение, семена которого были депонированы под идентификационным номером NCIMB 43745, или его потомство, отличающееся тем, что его потомство сохраняет один или несколько ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 или ЛКП3.1 (устанавливается на основе наличия одного или нескольких маркеров, как описано в других разделах).

В другом аспекте растение согласно изобретению не является растением дикого огурца или диким родственником огурца или местным сортом.

В еще одном аспекте растение по изобретению представляет собой посевной огурец из группы евразийских огурцов, группы восточноазиатских огурцов или группы огурцов Сишуанбанья. В другом аспекте растение согласно изобретению не является огурцом из группы индийских огурцов.

В одном варианте осуществления изобретения культивируемое растение огурца, содержащее один или несколько ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 (или вариант), дает бессемянные плоды без опыления, т.е. является партенокарпическим. Большинство европейских тепличных огурцов партенокарпические, т.е. женские цветки дают плоды без опыления, при этом плоды остаются бессемянными. Партенокарпия контролируется генетически, и специалисту в области селекции известно, как придать признак партенокарпии линии или сорту огурца (см., например, главу 13 «Огурец, авт. Т. Татлиоглу, стр. 207-209, книга «Генетическое улучшение овощных культур», редакторы Г. Каллоо и Б.О. Берг, издательство Pergamon Press, 2012 г., ISBN0080408265).

В дополнительном варианте осуществления изобретения культивируемое растение огурца, содержащее один или несколько ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 (или вариант), является преимущественно гинециальным или полностью гинециальным (дает 100% женских цветков). Это означает, что образуются

преимущественно или исключительно женские цветки. Данный признак также контролируется генетически, и селекционерам известно, как придать гинециальный признак линии или сорту огурца (см., например, главу 13 «Огурец, авт. Т. Татлиоглу, стр. 207-209, книга «Генетическое улучшение овощных культур», редакторы Г. Каллоо и Б.О. Берг, издательство Pergamon Press, 2012 г., ISBN0080408265).

В одном аспекте огурец по изобретению является одновременно партенокарпическим и гинециальным. Таким образом, растение дает преимущественно или исключительно женские цветки, которые без опыления дают бессемянные плоды. У гинециальных огурцов образование мужских цветков можно вызвать обработкой нитратом серебра. Данный метод используется для получения пыльцы и самоопыления инбредной гинециальной линии огурца.

В другом аспекте растение огурца по изобретению является однодомным (дает как мужские, так и женские цветки), необязательно партенокарпическим и однодомным.

В дополнительном варианте осуществления изобретения растение посевного огурца, содержащее один или несколько ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 (или вариант), является однородным и генетически стабильным в отношении морфологических характеристик плодов, которые дает указанное растение, например в части формы плода, цвета плода, толщины кожуры, бугорков и т.д.

Характеристики плода, такие как средняя длина плода, средний диаметр плода, толщина кожуры, наличие/отсутствие бугорков, колючесть, твердость кожуры, цвет кожуры, форма шейки плода, сужение плода, форма медиального поперечного сечения, наличие или отсутствие семян (партенокарпия), и т.д. зависят от сорта огурца, т.е. культивируемого генетического фона (генофонда), в который интрогрессируют ЛКП. Таким образом, в зависимости от типа огурца настоящей заявкой предусмотрены плоды различной формы, размера и типа. В одном аспекте плоды бессемянные.

Два основных типа плодов огурцов, выращиваемых сегодня в коммерческих целях в Соединенных Штатах, – это тип для реализации в свежем виде на рынке (салатный) и тип для использования в закатках (засолочный). Сорта и методы производства обычно адаптируются с учетом конечного использования. Салатные

огурцы зачастую длиннее, крупнее и имеют более темную и толстую кожуру, в то время как огурцы для засолки/использования в закатках имеют более короткие плоды, более тонкую кожуру с внутренней мякотью, что делает их более подходящими для засолки. Бессемянные сорта обычно предпочтительнее как для реализации в свежем виде, так и для засолки, поскольку формирующиеся и крупные семена неприятны на вкус.

В одном аспекте растение по изобретению относится к типу засолочных огурцов (огурцов для переработки) и дает плоды, которые на этапе съедобной и/или товарной зрелости имеют среднюю длину плода, по меньшей мере, 10 см, или, по меньшей мере, 11 см, или, по меньшей мере, 12 см, или, по меньшей мере, 13 см и/или отношение длины плода к диаметру, по меньшей мере, 2, по меньшей мере, 2,5, по меньшей мере, 3 или более.

В другом аспекте растение по изобретению представляет собой тип огурца для реализации в свежем виде, например, длинный огурец или салатный огурец, и дает плоды со средней длиной при съедобной и/или товарной зрелости больше, чем у засолочного типа, например, не менее 15 см, 16 см, 17 см, 18 см, 19 см, 20 см, 25 см, 26 см, 27 см, 28 см, 29 см, 30 см, 32 см, 40 см или более.

В предпочтительном аспекте растение по изобретению представляет собой длинный огурец, дающий плоды товарного размера, особенно плоды без семян. Настоящей заявкой также предусмотрены плоды товарного размера и их части, а также содержащие их пищевые или кормовые продукты. В одном варианте осуществления маркеры ОНП, связанные с одним или несколькими ОНП1.1, ОНП1.2, ОНП2.1 и/или ОНП3.1, встречаются во фруктах, частях фруктов или содержащих их пищевых или кормовых продуктах.

В одном аспекте, растение представляет собой индетерминантный огурец. В другом аспекте, огурец является детерминантным.

Настоящей заявкой также предусмотрены семена, из которых можно вырастить растение согласно изобретению, а также плоды огурца, собранные от растения согласно изобретению. В своем геноме они содержат один или несколько ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 и, следовательно, их можно отличить от других

фруктов по наличию одного или нескольких ОНП-маркеров, предусмотренных настоящей заявкой.

В одном аспекте плоды являются негорькими (выбранными из групп горьких и негорьких) и обладают размером, характерным для съедобной и/или при товарной зрелости.

В другом аспекте плоды имеют тонкую кожуру (выбранную из групп толстых и тонких) и обладают размером, характерным для съедобной и/или при товарной зрелости.

В другом варианте осуществления один или несколько ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 интрогрессируются в тип огурца, именуемый «Компактный», как описано в заявке US8710303B2. Таким образом, растения огурца согласно изобретению содержат компактный ген, как описано в заявке US8710303B2, в гомозиготной или гетерозиготной форме, как, например, в сортах Хай-Джек и Хай-Лиза (оба – Nunhems).

Дополнительный вариант осуществления изобретения представляет собой растительную клетку, ткань или часть растения или семени по изобретению, содержащую, по меньшей мере, одну рекомбинантную хромосому 1, 2 и/или 3, отличающееся тем, что указанная рекомбинантная хромосома 1, 2, и/или 3 содержит фрагмент интрогрессии из дикого огурца, и данный указанный фрагмент интрогрессии содержит ЛКП, придающий повышенную резистентность к ToLCNDV-ES, при этом ЛКП представляют собой один или несколько ЛКП 1.1, ЛКП 1.2, ЛКП 2.1 и/или ЛКП 3.1 (или их варианты).

Настоящей заявкой также предусмотрено использование рекомбинантной хромосомы 1, 2 и/или 3, содержащей фрагмент интрогрессии из дикого донорского огурца (указанный фрагмент интрогрессии содержит аллель, придающую повышенную резистентность к ToLCNDV-ES) для селекции сортов огурца, обладающих повышенной резистентностью к ToLCNDV-ES. В одном аспекте указанные рекомбинантные хромосомы 1, 2 и/или 3 представляют собой рекомбинантные хромосомы 1, 2 и/или 3, встречающиеся в семенах, депонированных под идентификационным номером доступа NCIMB 43745, или полученных из

указанных рекомбинантных хромосом 1, 2 и/или 3 (например, меньший фрагмент фрагмента интрогрессии, который встречается в указанных семенах). В другом варианте осуществления рекомбинантные хромосомы содержат один или несколько ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 от NCIMB 43745, PI605996, CGN22263, CGN22932 или PI197087 или другого дикого донора, который содержит тот же гаплотип ЛКП или генотип ЛКП для, в меньшей степени, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 ОНП-маркеров, связанных с каждым ЛКП. В некоторых случаях, дикий донор имеет средний индекс заболеваемости ToLCNDV-ES (по меньшей мере, в один момент времени, предпочтительно в два или три момента времени после инокуляции), по меньшей мере, на уровне 7,5, 7,6, 7,7, 7,8, 7,9, 8,0, 8,1, 8,2, 8,3, 8,4, 8,5, 8,6, 8,7, 8,8, 8,9 или 9,0.

Аналогичным образом, настоящей заявкой предусмотрено использование хромосомы 1, 2 и/или 3 или использование ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1, встречающихся в семенах, депонированных под идентификационным номером NCIMB 43745, или их потомства, или встречающихся у PI605996, CGN22263, CGN22932 или PI197087, или другого дикого донора, который содержит тот же гаплотип ОНП или генотип ОНП для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 ОНП-маркеров, связанных с каждым ОНП, для создания растения посевного огурца, содержащего фрагмент интрогрессии на хромосоме 1, 2 и/или 3, при этом указанный фрагмент интрогрессии придает повышенную резистентность к ToLCNDV-ES по сравнению с к генетическим контрольным растением огурца, лишенному указанного фрагмента интрогрессии (например, такому как растения, выращенные из семян, депонированных под номером NCIMB43744).

Аналогичным образом, настоящей заявкой предусмотрено использование растений, выращенных из семян, депонированных под идентификационным номером NCIMB 43745, или их потомства, для создания растения посевного огурца, обладающего повышенной резистентностью к ToLCNDV-ES и отличающегося тем, что этом указанная повышенная резистентность к ToLCNDV-ES придается фрагментом интрогрессии, полученным из хромосомы 1, 2 и/или 3 или их потомства.

Заявкой также предусмотрено использование растений, выращенных из семян, депонированных под номером доступа NCIMB43745, или их потомства, или использование растений, выращенных из семян PI605996, CGN22263, CGN22932 или PI197087, или от другого дикого донора, который содержит тот же гаплотип ОНП или генотип ОНП для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 ОНП-маркеров, связанных с каждым ЛКП, для переноса одного или нескольких ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 или фрагмента интрогрессии или его субфрагмента, содержащего указанный ЛКП, к другому растению огурца.

Также метод идентификации (обнаружения или селекции) посевного растения *C. sativus* сорт *sativus* или части растения, содержащей фрагмент интрогрессии на хромосоме 1, 2 и/или 3, содержащей ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 (или вариант любого из них), причем указанный фрагмент интрогрессии или область хромосомы, или указанные ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 (или вариант любого из них), например, как установлено в NCIMB 43745 или PI605996, CGN22263, CGN22932 или PI197087, или в другом диком доноре, включает в себя:

- а) обеспечение наличия культивируемого растения *C. sativus* сорт *sativus*, части растения или ДНК такого растения или части растения,
- б) скрининг указанного растения, части растения или ДНК с использованием анализа молекулярных маркеров, который обнаруживает, по меньшей мере, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более ОНП-маркеров:
 - i) ОНП_01 - ОНП_16 для выявления фрагмента интрогрессии на хромосоме 1, содержащей ЛКП1.1 (или вариант); и/или
 - ii) ОНП_17 - ОНП_31 для выявления фрагмента интрогрессии на хромосоме 1, содержащей ЛКП1.2 (или вариант); и/или
 - iii) ОНП_32 - ОНП_47 для выявления фрагмента интрогрессии на хромосоме 2, содержащей ЛКП2.1 (или вариант); и/или
 - iv) ОНП_48 - ОНП_62 для выявления фрагмента интрогрессии на хромосоме 3, содержащей ЛКП3.1 (или вариант);

и

- с) идентификацию и/или селекцию растения, содержащего дикий донорский нуклеотид ОНП (донорский гаплотип ОНП или донорский генотип ОНП) для, по меньшей мере, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или нескольких
- i) ОНП_01 - ОНП_16 для выявления фрагмента интрогрессии на хромосоме 1, содержащей ЛКП1.1 (или вариант); и/или
 - ii) ОНП_17 - ОНП_31 для выявления фрагмента интрогрессии на хромосоме 1, содержащей ЛКП1.2 (или вариант); и/или
 - iii) ОНП_32 - ОНП_47 для выявления фрагмента интрогрессии на хромосоме 2, содержащей ЛКП2.1 (или вариант); и/или
 - iv) ОНП_48 - ОНП_62 для выявления фрагмента интрогрессии на хромосоме 3, содержащей ЛКП3.1 (или вариант).

Кроме того, способ получения гибридных растений *C. sativus* F1, включающих в себя фрагмент интрогрессии на хромосоме 1, 2 и/или 3, содержащий ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 (или их варианты), включая:

- a) получение первого инбредного растения огурца, содержащего рекомбинантную хромосому 1, 2 и/или 3 в гомозиготной форме, имеющей интрогрессионный фрагмент, содержащий ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 (или вариант любого из них), а также содержащий нуклеотид ОНП дикого донора (гаплотип ОНП донора или генотип ОНП донора) для, по меньшей мере, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более из ОНП-маркеров, связанных с ОНП, при этом в некоторых случаях указанный фрагмент интрогрессии получен (или может быть получен) из NCIMB 43745, PI605996, CGN22263, CGN22932 или PI197087,
- b) получение второго инбредного растения огурца,
- c) скрещивание указанного растения огурца из пункта а) с указанным растением огурца из пункта b).
- d) сбор семян гибрида F1, полученных в результате такого скрещивания.

Собранные семена гибрида F1 также представляют собой вариант осуществления изобретения.

В другом аспекте предложен способ получения потомства NCIMB 43745, при этом указанный способ включает в себя:

- a) выращивание растения из семян, депонированных под идентификационным номером NCIMB 43745;
- b) самоопыление указанного растения один или более раз и/или скрещивание указанного растения один или более раз с другим растением огурца для получения семян-потомков;
- c) скрининг указанных семян-потомков или растений, выращенных из указанных семян или частей семян или растений, с использованием анализа молекулярных маркеров, который обнаруживает, по меньшей мере, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более ОНП-маркеров:
 - i) ОНП_01 - ОНП_16 для выявления фрагмента интрогрессии на хромосоме 1, содержащей ЛКП1.1 (или вариант); и/или
 - ii) ОНП_17 - ОНП_31 для выявления фрагмента интрогрессии на хромосоме 1, содержащей ЛКП1.2 (или вариант); и/или
 - iii) ОНП_32 - ОНП_47 для выявления фрагмента интрогрессии на хромосоме 2, содержащей ЛКП2.1 (или вариант); и/или
 - iv) ОНП_48 - ОНП_62 для выявления фрагмента интрогрессии на хромосоме 3, содержащей ЛКП3.1 (или вариант).
- d) идентификацию и/или селекцию растения, содержащего дикий донорский нуклеотид ОНП (донорский гаплотип ОНП или донорский генотип ОНП) для, по меньшей мере, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или нескольких
 - i) ОНП_01 - ОНП_16 для выявления фрагмента интрогрессии на хромосоме 1, содержащей ЛКП1.1 (или вариант); и/или
 - ii) ОНП_17 - ОНП_31 для выявления фрагмента интрогрессии на хромосоме 1, содержащей ЛКП1.2 (или вариант); и/или

iii) ОНП_32 - ОНП_47 для выявления фрагмента интрогрессии на хромосоме 2, содержащей ЛКП2.1 (или вариант); и/или

iv) ОНП_48 - ОНП_62 для выявления фрагмента интрогрессии на хромосоме 3, содержащей ЛКП3.1 (или вариант).

Описание донорского нуклеотида ОНП (гаплотипа или генотипа) приведено выше и в Таблицах 1 – 4.

Также предложен способ идентификации и/или селекции растения-донора дикого огурца, содержащего ЛКП, выбранный из ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1, включающий в себя:

a) скрининг семян или частей семян или растений или частей растений или ДНК таких растений или частей растений одного или нескольких образцов дикого огурца с использованием анализа молекулярных маркеров, который позволяет обнаружить, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 SNP маркеры:

i) ОНП_01 - ОНП_16 для выявления фрагмента интрогрессии на хромосоме 1, содержащей ЛКП1.1 (или вариант); и/или

ii) ОНП_17 - ОНП_31 для выявления фрагмента интрогрессии на хромосоме 1, содержащей ЛКП1.2 (или вариант); и/или

iii) ОНП_32 - ОНП_47 для выявления фрагмента интрогрессии на хромосоме 2, содержащей ЛКП2.1 (или вариант); и/или

iv) ОНП_48 - ОНП_62 для выявления фрагмента интрогрессии на хромосоме 3, содержащей ЛКП3.1 (или вариант).

b) идентификацию и/или селекцию образца дикого огурца, содержащего дикий донорский нуклеотид ОНП (донорский гаплотип ОНП или донорский генотип ОНП) для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16

i) ОНП_01 - ОНП_16 для выявления фрагмента интрогрессии на хромосоме 1, содержащей ЛКП1.1 (или вариант); и/или

- ii) ОНП_17 - ОНП_31 для выявления фрагмента интрогрессии на хромосоме 1, содержащей ЛКП1.2 (или вариант); и/или
- iii) ОНП_32 - ОНП_47 для выявления фрагмента интрогрессии на хромосоме 2, содержащей ЛКП2.1 (или вариант); и/или
- iv) ОНП_48 - ОНП_62 для выявления фрагмента интрогрессии на хромосоме 3, содержащей ЛКП3.1 (или вариант).

Описанный выше способ может также в некоторых случаях включать в себя\самоопыление диких образцов один или более раз, например до этапа а).

Дикие образцы могут представлять собой образцы дикого или примитивного огурца или родственников огурца, взятых, например, из хранилищ семян, таких как коллекции USDA ARS-GRIN, коллекции CGN и других. Примерами являются упомянутые указанные по тексту настоящей заявки образцы CGN и PI.

Описанный выше способ может также включать в себя этап тестирования одного или нескольких диких образцов в рамках анализа резистентности к ToLCNDV-ES. Он может, например, выполняться перед анализом молекулярных маркеров на этапе а), до самоопыления образца(-ов) или после самостоятельного опыления образца(-ов) и/или после этапа b), т.е. после отбора или идентификации одного или более образцов, содержащих гаплотип ОНП или генотип ОНП, идентичный или подобный тому, что описан в Таблицах 1-4, например гаплотип ОНП для ЛКП, имеющий донорские нуклеотиды для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 ОНП-маркеров, связанных с ЛКП. Один или несколько диких образцов могут быть отобраны для получения образцов (или их самоопыляющихся потомков), имеющих средний индекс заболеваемости ToLCNDV-ES, по меньшей мере, 7,5, 7.6, 7.7, 7.8, 7.9, 8.0, 8.1, 8.2, 8.3, 8.4, 8.5, 8.6, 8.7, 8.8, 8.9 или 9.0.

Также предусмотрен способ переноса ЛКП, выбранного из ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1, от дикого донора в растение посевного огурца, включающий в себя:

- а) предоставление образца дикого огурца (или его потомства, полученного путем самоопыления один или более раз), содержащего донорский нуклеотид ОНП

(донорский гаплотип ОНП или донорский генотип ОНП) для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 из

i) ОНП_01 - ОНП_16 для выявления фрагмента интрогрессии на хромосоме 1, содержащей ЛКП1.1 (или вариант); и/или

ii) ОНП_17 - ОНП_31 для выявления фрагмента интрогрессии на хромосоме 1, содержащей ЛКП1.2 (или вариант); и/или

iii) ОНП_32 - ОНП_47 для выявления фрагмента интрогрессии на хромосоме 2, содержащей ЛКП2.1 (или вариант); и/или

iv) ОНП_48 - ОНП_62 для выявления фрагмента интрогрессии на хромосоме 3, содержащей ЛКП3.1 (или вариант),

и в некоторых случаях предусматривает средний индекс заболеваемости ToLCNDV-ES, по меньшей мере, 7,5, предпочтительно, по меньшей мере, 8,0, 8,5, 8,6, 8,7, 8,8, 8,9 или 9,0,

- b) скрещивание указанного образца с растением посевного огурца для получения потомства F1, F2, F3 или последующих поколений самоопыления или BC1, BC2, BC3 или дальнейших поколений обратного скрещивания, и в некоторых случаях
- c) отбор потомства растения, содержащего один или более ЛКП.

Растение огурца на этапе b предпочтительно представляет собой посевной огурец, такой как европейский тепличный огурец, длинный огурец или салатный огурец.

Дикий образец на этапе a) находится в одном аспекте, выбранном из PI605996 (или его потомства), CGN22263 (или его потомства) или CGN22932 (или его потомства) или PI197087 (или его потомства).

Растение-потомок, полученное вышеуказанным способом, также является аспектом изобретения.

Настоящей заявкой также предусмотрена тара и упаковка, содержащая или включающая в себя семена, из которых можно выращивать растения по изобретению.

На них может быть указано, что они содержат семена посевного огурца, дающие растения, резистентные к ToLCNDV-ES.

Также предусмотрены семена-потомки и растения-потомки растений по изобретению, которые сохраняют интрогрессию хромосом 1, 2 и/или 3, содержащих один или более ЛКП, выбранных из ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1 (или вариант любого из них), или для которых характерна меньшая интрогрессия любых ЛКП (например, полученных из фрагмента, который присутствует в NCIMB 43745), который все еще придает повышенную резистентность к ToLCNDV-ES, т.е. который по-прежнему содержит один или несколько ЛКП. Потомство может представлять собой любое поколение, полученное путем самоопыления растения огурца согласно изобретению и/или скрещивания растения огурца согласно изобретению с другим растением огурца один или более раз. Таким образом, потомством является либо поколение (семена), полученное от первого скрещивания (F1) или самоопыления (S1), либо любое дальнейшее поколение, полученное путем скрещивания и/или самоопыления (F2, F3, и т.д.) и/или обратного скрещивания (BC1, BC2 и т.д.) одного или нескольких выбранных растений поколения F1 и/или S1 и/или BC1 (или растений любого дальнейшего поколения, например F2) с другим растением огурца (и/или дикого огурца). Потомство предпочтительно отбирается так, чтобы сохранить фрагменты интрогрессии дикого огурца, содержащие ЛКП, выбранный из ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1. Таким образом, потомство также имеет повышенный фенотип резистентности к ToLCNDV-ES, предпочтительно, по меньшей мере, тот же средний индекс заболеваемости, что и растение, использованное при первоначальном скрещивании или самоопылении. Присутствие (или сохранение) (одного или нескольких) фрагментов интрогрессии, содержащих ЛКП, можно определить фенотипически и/или с использованием анализа(-ов) молекулярных маркеров, описанных в настоящей заявке. Что касается фенотипической оценки, конечно, необходимо учитывать доминантную природу ЛКП. ЛКП2.1 является рецессивным или частично рецессивным, тогда как остальные три ЛКП являются аддитивными.

В другом аспекте предусмотрены части растений огурца согласно изобретению. Части включают, например, клетки и культуры клеток, культуры тканей, вегетативные ткани растений (листья, корни и т.д.), цветы, пыльцу, зародыши, плоды, части плодов

и т.д. Части растения содержат один или более фрагментов интрогрессии хромосом 1, 2 и/или 3, как описано выше, которые можно обнаружить с использованием одного или более описанных маркеров. Кроме того, когда целые растения регенерируются из таких частей огурца, как клетки, культуры клеток или тканей, а регенерированные растения содержат рекомбинантную хромосому 1, 2 и/или 3.

Соответственно, также предусмотрена растительная клетка, ткань или часть растения или семени согласно изобретению, содержащая, по меньшей мере, одну рекомбинантную хромосому 1, 2 и/или 3, причем указанная рекомбинантная хромосома 1, 2 и/или 3 содержит фрагмент интрогрессии из дикого растения-донора огурца, причем указанный фрагмент интрогрессии содержит ЛКП, придающий повышенную резистентность к ToLCNDV-ES, выбранный из ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1 (или вариантов любого из них).

Также описаны клеточные культуры *in vitro* и тканевые культуры *in vitro* клеток или тканей, содержащие описанную рекомбинантную хромосому 1, 2 и/или 3. Предпочтительно клетки или ткани можно регенерировать в целое растение огурца, т.е. клетки представляют собой регенерируемые клетки, а ткани содержат регенерируемые клетки. Таким образом, вегетативное размножение растений согласно изобретению также является вариантом осуществления настоящего изобретения. Соответственно, предусмотрено вегетативно размножаемое растение посевного огурца, которое содержит рекомбинантную хромосому 1, 2 и/или 3, как описано в настоящей заявке. В другом аспекте настоящей заявки охвачены неразмножающиеся клетки, содержащие ЛКП, придающий повышенную резистентность к ToLCNDV-ES, выбранный из ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1 (или вариантов любого из них), а также ткани, содержащие указанные клетки.

В конкретном аспекте предложены плоды огурца, собранные с растения согласно изобретению. Товарные плоды огурцов, особенно для реализации в свежем виде (салатные), обычно сортируются по размеру плодов и качественным характеристикам после сбора. См., например, стандарты США по сортам огурцов, Министерство сельского хозяйства США, вступили в силу 1 марта 1985 г., измененная редакция принята в январе 1997 г. По тексту настоящей заявки различаются разные

сорта огурцов. Таким образом, в одном аспекте собранные плоды относятся к американским сортам Фэнси, Экстра № 1, № 1, Малый сорт № 1, Большой сорт № 1, сорт № 2. Также предусмотрена тара или упаковка, содержащая или включающая в себя собранные плоды огурца. Опять же, клетки плодов отличаются от других плодов огурца наличием ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 (или вариантов любого из них) (определяемых в рамках одного или более анализа молекулярных маркеров).

В другом аспекте огурец представляет собой длинный огурец или салатный, а также собранные и в некоторых случаях обработанные плоды (например, нарезанные ломтиками или кубиками).

В другом аспекте огурец относится к засолочному типу, а также предусмотрены собранные и, при необходимости, маринованные плоды.

Изобретением также предусмотрен пищевой или кормовой продукт, содержащий или состоящий из части растения, описанной по тексту настоящей заявки, предпочтительно плодов огурца или его части, и/или экстракта из части растения, описанной по тексту настоящей заявки. Пищевой или кормовой продукт может быть свежим или обработанным, например, маринованным, консервированным, приготовленным на пару, вареным, жареным, бланшированным и/или замороженным и т.д. Например, по тексту настоящей заявки описана и настоящей заявкой предусмотрена такая тара, как банки, коробки, ящики, пакеты, картонные коробки, упаковка с модифицированной газовой средой, пленки (например, биоразлагаемые пленки) и т.д., а также предусмотрены части растений, такие как плоды или части плодов (свежие и/или обработанные).

Способы и применение согласно изобретению

В дополнительном варианте осуществления изобретение обеспечивает способ получения нового растения посевного огурца, которое содержит один или более фрагментов интрогрессии хромосом 1, 2 и/или 3, которые содержат ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 или варианты любого из них, отличающееся тем, что указанный один или более ЛКП придают повышенную резистентность к ToLCNDV-ES по сравнению с контрольным растением в гомозиготной или гетерозиготной форме, как описано выше. Способ включает в себя скрещивание растения по настоящему

изобретению или его потомка, как мужского, так и женского родителя, со вторым растением огурца (или диким огурцом-донором) один или более раз и/или самоопыление растения огурца по изобретению или его растения-потомка один или более раз и отбор потомства в результате указанного скрещивания и/или самоопыления.

Таким образом, предусмотрен способ переноса рекомбинантных хромосом 1, 2 и/или 3, оснований ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 или вариантов любых из них от одного растения (посевого) огурца предоставляется другое растение (посевого) огурца, особенно сорта или селекционные линии огурца, для которых необходимо повысить резистентность к ToLCNDV-ES.

Способ включает в себя этапы:

- a) получение первого растения посевого огурца, содержащего фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 (или вариант любого из них), предпочтительно в гомозиготной форме,
- b) получение второго растения посевого огурца, особенно растения, имеющего (нерекомбинантную) хромосому 1, 2 и/или 3 дикого типа, или растения, лишенного ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1,
- c) скрещивание указанного растения огурца из a) с указанным растением огурца из b).
- d) сбор гибридных семян F1 в результате указанного скрещивания и
- e) в некоторых случаях самоопыление растения, выращенного из указанных гибридных семян F1, для получения семян F2 или последующих поколений самоопыления и/или обратного скрещивания семян для получения поколений обратного скрещивания, и необязательно выбора семян F2 или семян дальнейшего поколения самоопыления или семян поколения обратного скрещивания, имеющих ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 (или вариант любого из них), а также
- f) в некоторых случаях дальнейшее скрещивание с растениями, выращенными из указанных F1 или F2, или семян самоопыляющегося поколения или семян

поколения обратного скрещивания для получения растения огурца, имеющего хорошие сельскохозяйственные характеристики и ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 (или вариант любого из них) в гомозиготной или гетерозиготной форме.

Наличие или отсутствие фрагмента интрогрессии, содержащего ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 (или вариант любого из них), может быть определено с помощью одного или более анализов молекулярных маркеров, описанных по тексту настоящей заявки, и/или путем определения того, значительно ли повышена резистентность к ToLCNDV-ES по сравнению с растением, например, на этапе б). Дальнейшее выращивание на этапе f) может включать в себя самоопыление, скрещивание, получение двойных гаплоидов, обратное скрещивание и их комбинации (например, обратное скрещивание и самоопыление) и т.д. Настоящей заявкой предусмотрены растения и семена, полученные вышеуказанным способом.

В одном аспекте растение на этапе а) может представлять собой растение, выращенное из семян, депонированных под номером NCIMB 43745, или его потомство, или растение, содержащее ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 (или вариант любого из них), присутствующих в семенах, депонированных под номерами NCIMB 43745, PI605996, CGN22263, CGN22932, PI197087 или другом образце дикого донора, содержащем тот же гаплотип или генотип ОНП для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 маркеров, связанных с ЛКП (например, как указано в Таблицах 1-4).

Также предусмотрен способ получения гибридных растений F1 посевного огурца, содержащих ЛКП, резистентный к ToLCNDV-ES (выбранный из ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 или варианта любого из них), включающий в себя:

- а) получение первого инбредного растения огурца, содержащего, по меньшей мере, одну рекомбинантную хромосому, содержащую фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКП резистентности к ToLCNDV-ES, выбранный из числа ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 или варианта любого из них,
- б) предоставление второго инбредного растения огурца, содержащего, по меньшей мере, одну рекомбинантную хромосому, содержащую фрагмент

- интрогрессии, содержащий ЛКП резистентности к ToLCNDV-ES, выбранный из числа ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 или варианта любого из них,
- с) скрещивание указанного растения огурца из пункта а) с указанным растением огурца из пункта b).
 - d) сбор семян гибрида F1, полученных в результате такого скрещивания.

Инбредные растения огурца а) и b) предпочтительно являются гомозиготными по фрагменту(-ам) интрогрессии, и они могут содержать фрагменты интрогрессии разных размеров и/или разного происхождения, т.е. от разных диких доноров и/или по разным ЛКП (например, растение в а) может быть гомозиготным по ЛКП1.1 и ЛКП1.2, а растение в b) может быть гомозиготным по ЛКП3.1). Так, например фрагмент интрогрессии в а) может быть тем же или другим фрагментом интрогрессии, чем в b). В одном аспекте инбредное растение огурца а) содержит, по меньшей мере, два ЛКП в гомозиготной форме (например, ЛКП1.1 и ЛКП1.2, или ЛКП1.1 и/или ЛКП1.2 и ЛКП3.1) и/или инбредный огурец растение b) содержит те же ЛКП в гомозиготной форме. В одном аспекте ЛКП, выбранный из числа ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1, представляет собой ЛКП, встречающийся в NCIMB43745, PI605996, CGN22263, CGN22932, PI197087 или другом диком доноре, содержащем, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более маркеров ОНП, связанных с ЛКП (см., например, таблицы 1-4) и предпочтительно имеющих средний индекс заболеваемости, по меньшей мере, 7,5, 7,6, 7,7, 7,8, 7,9, 8,0, 8,1, 8,2, 8,3, 8,4, 8,5, 8,6, 8,7, 8,8, 8,9 или 9,0.

Гибридные семена F1 предпочтительно имеют длину, меньшую длину, одну рекомбинантную хромосому, содержащую ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 (или вариант любого из них), а растения F1, выращенные из семян, следовательно, обеспечивают повышенную резистентность к ToLCNDV-ES по сравнению с контрольным растением. В том, что касается ЛКП2.1 или его варианта, данный ЛКП предпочтительно находится в гомозиготной форме, в то время как другие могут быть представлены в гетерозиготной или гомозиготной форме.

Настоящей заявкой предусмотрены растения и семена, полученные вышеуказанным способом.

В другом аспекте предложен способ получения растения посевного огурца, содержащего фрагмент интрогрессии хромосом 1, 2 и/или 3, причем указанный фрагмент интрогрессии содержит ЛКП, выбранный из числа ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 или вариант любого из них, причем указанный метод включает в себя этапы:

- a) получение первого растения посевного огурца,
- b) получение второго дикого огурца, отличающегося тем, что указанное растение содержит ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 или вариант любого из них, что определяется по наличию одного или нескольких ОНП-маркеров (особенно по наличию гаплотипа или генотипа ОНП донора для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 ОНП-маркеров, связанных с ЛКП), как описано по тексту настоящей заявки,
- c) скрещивание указанного растения огурца из пункта a) с указанным растением огурца из пункта b).
- d) сбор семян F1 от указанного скрещивания и обратного скрещивания растения F1 с растением огурца a) для получения популяции обратного скрещивания (BC1) или самоопыления указанных растений F1 один или более раз для получения популяции F2 или F3 или более высокого поколения, получаемого самоопылением,
- e) в некоторых случаях обратное скрещивание растения d) один или более раз с растением огурца из этапа a) для получения популяции более высокого поколения путем обратного скрещивания, и
- f) идентификация самоопыляющегося растения F2, F3 или более высокого поколения, или BC1 или растения обратного скрещивания более высокого поколения, которое включает в себя интрогрессию на хромосоме 1, 2 и/или 3, причем указанный фрагмент интрогрессии включает в себя ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 или любой из указанных фрагментов.

Говоря о популяциях обратного скрещивания в способе, популяции обратного скрещивания также могут быть самоопыляемыми, т.е. BC1S1, BC1S2, BC2S1, BC2S2 или др.

На одном или нескольких этапах от b) до f) можно проверить наличие ЛКП (или фрагмента интрогрессии, содержащего ЛКП) (а также выполнить селекцию растений) путем проведения анализа молекулярных маркеров, как описано в других разделах настоящей заявки, например, путем определения того, содержит ли растение один или более ОНП-маркеров (например, один или более ОНП_01-ОНП_16, связанных с ЛКП1.1, один или более ОНП_17-ОНП_31, связанных с ЛКП1.2, один или более ОНП_32-47, связанных с ЛКП2.1 или один или более ОНП_48 - ОНП_62, связанных с ЛКП3.1).

Используя этот метод, можно получить и/или селекционировать новые растения посевного огурца, содержащие интрогрессию с ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 или вариантом любого из них, из дикого источника, например, дикого или примитивного огурца. В одном аспекте дикий огурец на этапе b) выбран из PI605996, CGN22263, CGN22932, PI197087 или другого дикого донора, содержащего, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более ОНП-маркеров (гаплотип ОНП или генотип ОНП), связанный с ЛКП (см., например, таблицы 1-4) и предпочтительно имеющий средний индекс заболеваемости ToLCNDV-ES, по меньшей мере, 7,5, 7,6, 7,7, 7,8, 7,9, 8,0, 8,1, 8,2, 8,3, 8,4, 8,5, 8,6, 8,7, 8,8, 8,9 или 9,0.

В одном аспекте, способ получения культурного растения огурца, содержащего фрагмент интрогрессии хромосом 1, 2 и/или 3, причем указанный фрагмент интрогрессии включает в себя ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 или вариант любого из них, и включает в себя этапы:

- a) получение первого растения посевного огурца,
- b) получение второго дикого огурца, содержащего, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более маркеров ОНП (гаплотип ОНП или генотип ОНП), связанных, по меньшей мере, с одним ЛКП, выбранным из ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 и в некоторых случаях имеющий средний

индекс заболеваемости ToLCNDV-ES, по меньшей мере, 7,5, 7,6, 7,7, 7,8, 7,9, 8,0, 8,1, 8,2, 8,3, 8,4, 8,5, 8,6, 8,7, 8,8, 8,9 или 9,0,

- c) скрещивание указанного растения из этапа а) с указанным растением из этапа b),
- d) сбор семян F1 от указанного скрещивания и обратного скрещивания растения F1 с растением огурца а) для получения популяции обратного скрещивания (BC1) или самоопыления указанных растений F1 один или более раз для получения популяции F2 или F3,
- e) в некоторых случаях, самоопыление популяции обратного скрещивания для получения, например, популяции BC1S1 или BC1S2,
- e) идентификация растения F2, F3, BC1, BC1S1 или BC1S2, которое содержит (один или более) ОНП-маркеров, и/или любого дикого родственника специфичного для генома маркера огурца в промежуточном положении ОНП-маркеров.

Также предусмотрен способ идентификации дикого огурца, содержащего ЛКП резистентности к ToLCNDV-ES на хромосомах 1, 2 и/или 3, причем указанный способ включает в себя:

- A) получение дикого или примитивного образца огурца или нескольких образцов;
- B) скрининг указанного образца(-ов) с использованием анализа молекулярных маркеров, который позволяет обнаружить, по меньшей мере, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более ОНП-маркеров, связанных, по меньшей мере, с одним ЛКП, выбранным из числа ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1;
- C) идентификация и/или селекция образца из b) содержащего гаплотип ОНП или генотип ОНП, по меньшей мере, из 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 маркеров SNP, связанных с ЛКП, выбранный из:

Для ЛКП1.1:

- a) ТХ или ТТ генотип для маркера ОНП_01 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 1 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);

- b) TX или TT генотип для маркера ОНП_02 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 2 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- c) TX или TT генотип для маркера ОНП_03 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 3 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- d) TX или TT генотип для маркера ОНП_04 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 4 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- e) AX или AA генотип для маркера ОНП_05 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 5 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- f) CX или CC генотип для маркера ОНП_06 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 6 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- g) TX или TT генотип для маркера ОНП_07 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 7 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- h) AX или AA генотип для маркера ОНП_08 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 8 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- i) GX или GG генотип для маркера ОНП_09 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 9 (или на нуклеотиде 51 в его варианте); или AX или AA генотип для Однонуклеотидного Полиморфизма маркера ОНП_09 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 9 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- j) CX или CC генотип для маркера ОНП_10 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 10 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- k) CX или CC генотип для маркера ОНП_11 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 11 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- l) CX или CC генотип для маркера ОНП_12 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 12 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- m) TX или TT генотип для маркера ОНП_13 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 13 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- n) AX или AA генотип для маркера ОНП_14 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 14 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);

- o) CX или CC генотип для маркера ОНП_15 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 15 (или на нуклеотиде 51 в его варианте); или TX или TT генотип для Однонуклеотидного Полиморфизма маркера ОНП_15 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 15 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- p) GX или GG генотип для маркера ОНП_16 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 16 (или на нуклеотиде 51 в его варианте).

Для ЛКП1.2:

- a) CX или CC генотип для маркера ОНП_17 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 17 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- b) GX или GG генотип для маркера ОНП_18 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 18 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- c) GX или GG генотип для маркера ОНП_19 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 19 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- d) TX или TT генотип для маркера ОНП_20 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 20 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- e) GX или GG генотип для маркера ОНП_21 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 21 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- f) GX или GG генотип для маркера ОНП_22 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 22 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- g) TX или TT генотип для маркера ОНП_23 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 23 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- h) CX или CC генотип для маркера ОНП_24 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 24 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- i) AX или AA генотип для маркера ОНП_25 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 25 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- j) CX или CC генотип для маркера ОНП_26 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 26 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);

- k) CX или CC генотип для маркера ОНП_27 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 27 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- l) CX или CC генотип для маркера ОНП_28 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 28 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- m) CX или CC генотип для маркера ОНП_29 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 29 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- n) AX или AA генотип для маркера ОНП_30 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 30 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- o) GX или GG генотип для маркера ОНП_31 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 31 (или на нуклеотиде 51 в его варианте).

Для ЛКП2.1:

- a) TX или TT генотип для маркера ОНП_32 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 32 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- b) TX или TT генотип для маркера ОНП_33 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 33 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- c) CX или CC генотип для маркера ОНП_34 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 34 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- d) AX или AA генотип для маркера ОНП_35 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 35 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- e) TX или TT генотип для маркера ОНП_36 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 36 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- f) CX или CC генотип для маркера ОНП_37 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 37 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- g) GX или GG генотип для маркера ОНП_38 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 38 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- h) CX или CC генотип для маркера ОНП_39 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 39 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);

- i) GX или GG генотип для маркера ОНП_40 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 40 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- j) TX или TT генотип для маркера ОНП_41 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 41 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- k) AX или AA генотип для маркера ОНП_42 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 42 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- l) TX или TT генотип для маркера ОНП_43 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 43 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- m) TX или TT генотип для маркера ОНП_44 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 44 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- n) GX или GG генотип для маркера ОНП_45 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 45 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- o) AX или AA генотип для маркера ОНП_46 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 46 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- p) GX или GG генотип для маркера ОНП_47 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 47 (или на нуклеотиде 51 в его варианте).

Для ЛКПЗ.1:

- a) AX или AA генотип для маркера ОНП_48 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 48 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- b) CX или CC генотип для маркера ОНП_49 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 49 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- c) CX или CC генотип для маркера ОНП_50 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 50 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- d) CX или CC генотип для маркера ОНП_51 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 51 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- e) TX или TT генотип для маркера ОНП_52 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 52 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);

- f) CX или CC генотип для маркера ОНП_53 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 53 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- g) CX или CC генотип для маркера ОНП_54 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 54 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- h) CX или CC генотип для маркера ОНП_55 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 55 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- i) GX или GG генотип для маркера ОНП_56 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 56 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- j) CX или CC генотип для маркера ОНП_57 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 57 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- k) TX или TT генотип для маркера ОНП_58 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 58 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- l) TX или TT генотип для маркера ОНП_59 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 59 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- m) GX или GG генотип для маркера ОНП_60 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 60 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- n) AX или AA генотип для маркера ОНП_61 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 61 (или на нуклеотиде 51 в его варианте);
- o) AX или AA генотип для маркера ОНП_62 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 62 (или на нуклеотиде 51 в его варианте).
- D) в некоторых случаях, интрогрессия указанного ЛКП из указанного дикого образца в посевной огурец (например, путем обратного скрещивания).

На этапах B), C) и D) может, например, применяться анализ генотипирования ОНП (как, например, анализ KASP), при этом также можно использовать и другие виды анализа молекулярных маркеров. Это также относится и к другим способам, описанным по тексту настоящей заявки. Таким образом, при помощи данного метода можно проводить скрининг образцов дикого огурца на наличие одного или более маркеров, связанных с одним или несколькими ЛКП, и интрогрессировать ЛКП в

растения посевного огурца. Растения и семена, полученные таким способом, также представляют собой вариант осуществления изобретения.

В еще одном аспекте предусмотрен способ идентификации растения посевного огурца, содержащего фрагмент интрогрессии хромосом 1, 2 и/или 3, отличающийся тем, что указанный фрагмент интрогрессии содержит ЛКП резистентности к ToLCNDV-ES, отличающийся тем, что указанный способ включает в себя скрининг растения посевного огурца или популяции растений посевного огурца или частей таких растений огурца (например, плодов, клеток, ДНК) с использованием анализа молекулярных маркеров, который обнаруживает, по меньшей мере, один ОНП-маркер (предпочтительно 2, 3, 4, 5 или более; предпочтительно последовательные ОНП-маркеры), что указывает на (связанные) ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1, ЛКП3.1 (или их варианты), как описано в других разделах настоящей заявки.

В рамках указанного метода можно использовать любой из тестов молекулярных маркеров, описанных в других разделах настоящей заявки. Таким образом, с помощью данного метода можно обнаружить наличие фрагмента интрогрессии, содержащей ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1, ЛКП3.1 (или их варианты) в культивируемых растениях огурца или частях растений.

В еще одном аспекте предложен метод определения наличия в растении посевного огурца фрагмента интрогрессии хромосом 1, 2 и/или 3, отличающегося тем, что указанный фрагмент интрогрессии содержит ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1, ЛКП3.1 (или их варианты), при этом указанный способ включает в себя:

- a) получение растения посевного огурца или части растения,
- b) скрининг указанного растения или указанной части растения (или ДНК, полученной из указанного растения или части растения) с использованием анализа молекулярных маркеров, который обнаруживает, по меньшей мере, один (предпочтительно, по меньшей мере, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более) SNP маркер, выбранный из группы, состоящей из:

ОНП_01 - ОНП_16, связанный с ЛКП1.1;

ОНП_17 - ОНП_31, связанный с ЛКП1.2;

ОНП_32 - ОНП_47, связанный с ЛКП2.1; и/или

ОНП_48 - ОНП_62, связанный с ЛКП3.1.

Скрининг молекулярных маркеров, очевидно, включает в себя получение растительного материала и анализ геномной ДНК материала на наличие маркерного гаплотипа или генотипа.

В рамках данного метода также можно проводить другие тесты на молекулярные маркеры, описанные в других разделах по тексту настоящей заявки.

Настоящей заявкой также предусмотрен способ получения растения посевного огурца, содержащего один или более фрагментов интрогрессии хромосом 1, 2 и/или 3, отличающегося тем, что указанный фрагмент интрогрессии включает в себя ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1. (или их варианты), а также обеспечивает:

- a) получение первого растения посевного огурца, предпочтительно без ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1,
- b) получение второго растения посевного огурца, выбранного из растений, выращенных из семян, депонированных под идентификационным номером NCIMB43745, или его потомства, или получение второго растения посевного или дикого огурца, содержащего ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1, или вариант любого из них и содержащий устойчивый донорский гаплотип или генотип ОНП для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 маркеров ОНП, связанных с ЛКП,
- c) скрещивание указанного растения из этапа a) с указанным растением из этапа b),
- d) сбор семян F1, полученных в результате указанного скрещивания и, в некоторых случаях, самоопыления указанных растений F1 один или несколько раз для получения популяции F2 или F3 или дальнейшего самоопыления,
- e) в некоторых случаях обратное скрещивание растения F1 или F2 или F3 или дальнейшее самоопыление растения с растением a) для получения популяции обратного скрещивания,

- f) в некоторых случаях самоопыление популяции обратного скрещивания один или более раз,
- g) идентификация F1, F2, F3, растения, полученного в результате дальнейшего самоопыления или обратного скрещивания, которое содержит устойчивый донорский гаплотип или генотип ОНП для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 маркеров ОНП, связанных с ЛКП.

В другом аспекте предложен способ получения гибридных растений F1, включающий в себя:

- a) получение первого инбредного растения огурца, содержащего фрагмент интрогрессии, ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1, отличающегося тем, что указанный фрагмент интрогрессии представляет собой фрагмент, встречающийся в NCIMB43745, или более короткий фрагмент такого фрагмента интрогрессии и/или где ЛКП представляет собой ЛКП, который встречается в NCIMB43745, или отличающийся тем, что ЛКП содержит устойчивый донорский гаплотип или генотип ОНП для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 маркеров ОНП, связанных с ЛКП,
- b) получение второго инбредного растения огурца (в некоторых случаях содержащего фрагмент интрогрессии, ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1, отличающегося тем, что указанный фрагмент интрогрессии представляет собой фрагмент, встречающийся в NCIMB43745, или более короткий фрагмент такого фрагмента интрогрессии и/или где ЛКП представляет собой ЛКП, который встречается в NCIMB43745, или отличающийся тем, что ЛКП содержит устойчивый донорский гаплотип или генотип ОНП для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 маркеров ОНП, связанных с ЛКП),
- c) скрещивание указанного растения из этапа а) с указанным растением из этапа b),
- d) сбор семян гибрида F1, полученных в результате такого скрещивания.

В другом аспекте предусмотрен способ получения потомства NCIMB43745, сохраняющего ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1, при этом указанный способ включает в себя:

- a) выращивание растения из семян, депонированных под идентификационным номером NCIMB 43745;
- b) самоопыление указанного растения один или более раз или скрещивание указанного растения один или более раз с другим растением посевного огурца для получения семян-потомков;
- c) скрининг указанных семян потомков или растений, выращенных из указанных семян или частей семян или растений, с использованием анализа молекулярных маркеров, который обнаруживает, по меньшей мере, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более ОНП-маркеров, которые описаны по тексту настоящей заявки как связанные с одним или более ЛКП, выбранными из числа ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1;
- d) идентификация и/или селекция потомства растения, содержащего резистентный донорский гаплотип или генотип ОНП для, по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 маркеров ОНП, связанных с ЛКП (как указано в других разделах настоящей заявки); и
- e) в некоторых случаях подтверждение повышенной резистентности указанных растений-потомков к ToLCNDV-ES.

Предусмотрен способ получения потомства NCIMB 43745, отличающийся тем, что данный способ включает в себя:

- a) выращивание растения из семян, депонированных под идентификационным номером NCIMB 43745;
- b) самоопыление указанного растения один или более раз или скрещивание указанного растения один или более раз с другим растением огурца для получения семян-потомков;
- c) скрининг указанных семян потомков или растений, выращенных из указанных семян или частей семян или растений, с использованием

анализа молекулярных маркеров, который обнаруживает, по меньшей мере, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более ОНП-маркеров, которые связаны с одним или более ЛКП, выбранными из числа ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1, при этом указанные ОНП-маркеры представляют собой:

ОНП_01 - ОНП_16 для выявления фрагмента интрогрессии, содержащего ЛКП1.1;

ОНП_17 - ОНП_31 для выявления фрагмента интрогрессии, содержащего ЛКП1.2;

ОНП_32 - ОНП_47 для выявления фрагмента интрогрессии, содержащего ЛКП2.1;

ОНП_48 - ОНП_62 для выявления фрагмента интрогрессии, содержащего ЛКП3.1;

d) выявление и/или селекция растения-потомка, содержащего:

i), по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более маркеров ОНП_01 - ОНП_16, которые имеют устойчивый донорский гаплотип ОНП; и или

ii), по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более маркеров ОНП_17 - ОНП_31, которые имеют устойчивый донорский гаплотип ОНП; и или

iii), по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более маркеров ОНП_32 - ОНП_47, которые имеют устойчивый донорский гаплотип ОНП; и/или

iv), по меньшей мере, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более маркеров ОНП_48 - ОНП_62, которые имеют устойчивый донорский гаплотип ОНП;

e) в некоторых случаях подтверждение повышенной резистентности указанных растений-потомков к ToLCNDV-ES.

Растение-потомок, полученное любым из вышеуказанных способов, также является аспектом изобретения.

Также можно использовать способы и маркеры, описанные по тексту настоящей заявки, для уменьшения размера фрагмента интрогрессии, содержащего

ЛКП, т.е. получать и выполнять селекцию рекомбинантов, имеющих меньший фрагмент интрогрессии, но при этом сохраняющих ЛКП.

В одном аспекте, изобретение предусматривает использование рекомбинантной хромосомы 1, 2 и/или 3, содержащей фрагмент интрогрессии из дикого огурца, отличающийся тем, что указанный фрагмент интрогрессии, содержит ЛКП, выбранный из числа ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1 (или вариант любого из них) для получения сортов огурца с повышенной резистентностью к ToLCNDV-ES.

Также предусмотрено использование хромосомы 1, 2 и/или 3, обнаруженной в семенах, депонированных под идентификационным номером NCIMB 43745, или их потомстве, для получения растения посевного огурца, содержащего фрагмент интрогрессии указанной хромосомы 1, 2 или 3.

Также предусмотрено использование растений, выращенных из семян, депонированных под идентификационным номером NCIMB 43745, или их потомства, для получения растения посевного огурца, обладающего повышенной резистентностью к ToLCNDV-ES, и отличающегося тем, что указанная повышенная резистентность к ToLCNDV-ES придается фрагментом интрогрессии, полученным из хромосомы 1, 2 или 3 указанных растений-потомков.

В случаях, когда указано, что ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1 присутствуют в депонированных семенах (NCIMB 43745) или их потомстве, последовательность, фланкирующая ОНП на нуклеотиде 51, представленная в Таблицах 1 – 4, представляет собой фланкирующую последовательность конкретного донора, используемую при картировании и интрогрессии. Тем не менее, маркер ОНП на нуклеотиде 51, может также присутствовать в последовательности, которая менее чем на 100% идентична последовательности, представленной под SEQ ID NO: 1 – 62, например на нуклеотиде 51 последовательности, которая, по меньшей мере, на 95%, 96%, 97%, 98%, 99% идентична предоставленной последовательности. Идентичность последовательности области, фланкирующей ОНП, может, например, анализироваться с помощью средства поиска основного локального выравнивания или попарного выравнивания последовательностей одинаковой длины, содержащих ОНП на нуклеотиде 51 (с использованием, например, Needle, с параметрами по умолчанию).

Также настоящей заявкой предусмотрены последовательности молекулярных маркеров (и выделенные молекулы нуклеиновой кислоты, содержащие последовательность) и их применение для обнаружения и/или получения растений огурца, содержащих описанные в заявке ЛКП.

Кроме того, предусмотрен способ выращивания растения, содержащего один или более ЛКП, выбранных из числа ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 (или их вариантов), в регионах, где ToLCNDV-ES присутствует в популяциях белокрылки, например, в странах Средиземноморского региона или в странах Северной Европы, либо в полях, теплицах или туннелях, при этом требуется меньшая обработка инсектицидами по сравнению с растениями, не имеющими ЛКП. В некоторых случаях обработка инсектицидами не требуется, например, если растения имеют средний индекс заболеваемости на уровне 9,0 (симптомы отсутствуют). В растениях, содержащих все четыре ЛКП в гомозиготной форме, при помощи метода двойных сэндвич-антител - твердофазного ИФА вирус обнаружен не был. Таким образом, в одном аспекте предусмотрен способ выращивания растений посевного огурца, имеющих индекс заболеваемости ToLCNDV-ES 9,0 (содержащего все четыре ЛКП в гомозиготной форме), при этом указанный способ не включает в себя химическую обработку для борьбы с белокрылкой, применяемую во время культивации.

Депонирование семян

Репрезентативный образец семян салатного огурца *Cucumis sativus* сорт *sativus*, обозначенного ToLCNDV-R, содержащий фрагменты интрогрессии, содержащие ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1 в гомозиготной форме, и генетический контрольный сорт (GC), лишенный фрагмента интрогрессии и ЛКП, обозначенный ToLCNDV-GC, были депонированы специалистами Nunhems B.V. 5 марта 2021 года в NCIMB Ltd. (Фергюсон-билдинг, Крэйбстоун-истейт, Баксберн, Абердин, Шотландия, AB21 9YA, Великобритания), согласно Будапештскому договору, на основании экспертного решения (Европейская патентная конвенция 2000, правило 32(1)). Семенам были присвоены следующие идентификационные номера: NCIMB 43745 (ToLCNDV-R) и NCIMB 43744 (ToLCNDV-GC).

По требованию заявителя образцы биологического материала и любого материала, полученного из него, могут передаваться только уполномоченному эксперту в соответствии с Правилom 32(1) Европейской патентной конвенции или соответствующим законодательством стран или в соответствии с договорами с аналогичными правилами и положениями, до указания о выдаче патента, либо по прошествии 20 лет с даты подачи заявления, если заявка была отклонена, отозвана или считается отозванной.

Доступ к депонированным семенам по запросу предоставляется в течение рассмотрения настоящей заявки лицам, определенным директором Управления по патентам США, которые наделены соответствующими полномочиями. В соответствии с 37 Свода федеральных нормативных актов § 1.808(b), любые ограничения, установленные лицом, производящим депонирование, в части доступности депонированного материала общественности, безусловно, снимаются после выдачи патента. Депонированные семена хранятся в течение 30 лет или 5 лет после последнего запроса, или в течение срока действия патента, в зависимости от того, какой срок больше, и подлежат замене в случаях, когда они становятся нежизнеспособными в течение указанного периода. Заявитель не отказывается от каких-либо прав, предоставленных в соответствии с настоящим патентом в данной заявке или в соответствии с Законом о защите сортов растений (7 сводный кодекс федерального законодательства США 2321 и далее).

В следующих неограничивающих примерах описано, как можно получить растения, содержащие ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1 или варианты любого из них. Примеры, представленные в настоящем документе, являются неограничивающими. Любые патентные и непатентные документы, указанные по тексту настоящей заявки, включены в нее посредством ссылки.

Примеры

Пример 1 – Анализ заболеваемости ToLCNDV-ES

Для тестирования растений на резистентность к ToLCNDV-ES был разработан протокол, предусматривающий передачу вируса ToLCNDV-ES белокрылкой.

Для этого использовался высоковирулентный испанский изолят ToLCNDV-ES (MU_18_006).

На каждый тестируемый генотип заражали по 10 растений в двух повторностях (по 5 инокулированных растений в каждой повторности).

Тесты проводились в теплице произвольной блочной конструкции. Они включали в себя контрольные сорта с известной реакцией на инфицирование ToLCNDV-ES. К ним, например, относится сорт Ренуар F1 (средний индекс заболеваемости порядка 3,0 или менее), Мاستил F1 (средний индекс заболеваемости порядка 2,0 или менее), Скисито F1 (средний индекс заболеваемости порядка 5,0 или менее), Тарай F1 (средний индекс заболеваемости порядка 6,0 – 7,0 или менее).

Растения высевают в лотки и выращивают в питомнике. Инокуляцию тестируемых растений проводят примерно через 10–14 дней после посева, когда распускается первый лист.

Инокуляцию тестируемых растений вирусом ToLCNDV-ES проводят в три этапа. Сначала (этап 1) «инокулируемые растения» (содержащие ToLCNDV-ES) помещают в зону присутствия белокрылок, где обитает большое количество белокрылок, и белокрылок оставляют питаться растениями с инокулятом в течение 2–3 дней для приобретения вируса. Затем, через 2-3 дня лотки с тестируемыми растениями ставят в помещение (этап 2), стряхивают белокрылку с инокулируемых растений (которые удаляют) для перемещения белокрылок на тестируемые растения. На каждом тестируемом растении должно быть 10 – 15 белокрылок. Белокрылок оставляют на 2-3 дня на тестируемых растениях, чтобы обеспечить возможность передачи вируса тестируемым растениям. После этого (этап 3) белокрылку удаляют с растений путем подачи на тестируемые растения при высоком давлении воды с мыльным раствором.

Инокулированные тестируемые растения пересаживают в горшки большего размера, после чего выращивают в теплице при температуре 25°C/16 часов на свету,

16°C/8 часов в темноте и относительной влажности порядка 60% осенью и зимой или при 32°C/16 часов при свете, 18°C/8 часов в темноте, относительной влажности порядка 60% весной или летом.

Например, через 25 (или 21, 22, 23 или 24) дней после инокуляции (дпи) и, например, через 32 (или 33, 34 или 35) дпи проводят первую и вторую зрительную оценку заболеваемости, в некоторых случаях дополнительную оценку, например, на 46 (или 47, 48 или 49) дпи.

Оценка производится визуально на предмет «пожелтения», по следующей шкале (см. также Фигуру 2):

Индекс 2,0: листья огурца полностью покрыты мозаикой пожелтения (порядка 90 – 100% площади листьев).

Индекс 3,0: листья огурца в значительной степени покрыты мозаикой пожелтения (порядка 70 – 80% площади листьев).

Индекс 4,0: листья огурца с четко выраженной мозаикой пожелтения (порядка 40 – 60% площади листьев).

Индекс 5,0: листья огурца с мозаикой пожелтения (порядка 30 – 40% площади листьев), которая равномерно распределена в межжилковых пространствах

Индекс 6,0: листья огурца с мозаикой пожелтения (порядка 20 – 30% площади листьев), которая равномерно распределена в межжилковых пространствах

Индекс 7,0: листья огурца покрыты умеренно выраженной мозаикой пожелтения (порядка 10% площади листьев).

Индекс 8,0: листья огурца с весьма незначительной мозаикой пожелтения (изгиб жилок).

Индекс 9,0: здоровые листья без симптомов.

Выполняется расчет среднего индекса заболеваемости на тестируемый генотип и контрольный генотип.

Ниже приведен общий график тестирования:

Неделя	Номер дня	События
1	1	Посев растений для обновления инокулята
2	14	Обновление инокулята

6	40	Посев опытных/тестовых растений
7	48	Количество всходов
8	52	Фаза 1: подготовка к инокуляции (растения-инокулянты помещают в зону присутствия белокрылки для заражения вирусом)
8	54	Фаза 2: день инокуляции (тестируемые растения помещают в зону присутствия белокрылки)
8	56	Фаза 3: инокуляция (удаление белокрылки)
9	57	Трансплантация
11	75	1 ^{ая} оценка (например, 21 дпи)
13	89	2 ^{ая} оценка (например, 35 дпи)
15	103	3 ^я оценка (например, 49 дпи, необязательно)
15	105	Удаление тестовых растений и дезинфекция объекта

Пример 2 – Анализ на основе метода двойных сэндвич-антител - твердофазного ИФА

Анализ на основе метода двойных сэндвич-антител - твердофазного ИФА проводили с использованием антисыворотки ToLCNDV (Agdia EMEA, Grigny, Франция) с использованием стандартных методов, см., например, Romain et al., 2019 Plant disease 11:2913-2919. В общей сложности 10 растений генотипа (5 растений на повторность) были отобраны индивидуально путем сбора 5 листовых мешочков из 5 различных молодых листьев, собранных через 30 дпи от взрослых растений. Значения оптической плотности получены через 60 минут после инкубации методом двойных сэндвич-антител - твердофазного ИФА. Определена средняя оптическая плотность 10 растений.

Пример 3 – Определение ЛКП, придающих резистентность к ToLCNDV-ES

Три картирующие популяции F2 были созданы на двух разных генетических фонах путем скрещивания дикого донорского огурца с элитным огурцом (салатным и длинным типом огурцов). Размер популяций превышал 700 растений.

Дикий донор имел индекс заболеваемости ToLCNDV-ES 9,0 во всех трех временных точках после инокуляции (дпи), т.е. для него было характерно полное отсутствие симптомов.

Популяции F2 были проанализированы генетически на наличие маркеров ОНП, а также фенотипически на наличие симптомов ToLCNDV-ES, как описано ниже, в рамках анализа заболеваемости ToLCNDV-ES.

Во всех картируемых популяциях были идентифицированы четыре ЛКП: три основных ЛКП (ЛКП1.1, ЛКП1.2 и ЛКП2.1) с показателем сцепления генов выше 20 и один второстепенный ЛКП (ЛКП3.1) с более низким показателем сцепления генов (более 4).

2500 семян линии F3, содержащей все четыре ЛКП в гомозиготной форме, были депонированы под идентификационным номером NCIMB 43745. Еще 2500 семян линии BC1F4 без всех четырех ЛКП были депонированы под идентификационным номером NCIMB 43744.

Ниже представлены маркеры однонуклеотидного полиморфизма (ОНП), связанные с указанными ЛКП и охватывающими фрагменты интрогрессии. Обратите внимание, что последовательность, фланкирующая ОНП, представляет собой последовательность дикого донора. Также показана позиция ОНП на физической карте *C. sativus* (китайский длинный V3). Далее представлен гаплотип ОНП для каждого ЛКП трех доноров, резистентных к ToLCNDV-ES (CGN22263, PI605996 и CGN22932, альтернативное название PI197087). Специалистами принято, что «гаплотип» ОНП относится к нуклеотидам ОНП на одной хромосоме. Обычно, говоря о гаплотипе ОНП для маркеров ОНП, связанных с ЛКП, придающими резистентность к ToLCNDV, подразумеваются нуклеотиды ОНП резистентного донора.

Таблица 1 – SNP маркеры для ЛКП1.1 на хромосоме 1

ОНП-маркер	Физическое положение ОНП (количество оснований)	ОНП-гаплотип рекуррентного родителя	ОНП-гаплотип фрагмента интрогрессии от донора (как в NCIMB43745)	CGN2263	PI605996	CGN22932	Выделена последовательность с ОНП (на нуклеотиде 51 SEQ ID No)
ОНП_01	8235142	G	T	T	T	T	AACACAAAAATGAAGATATGAAGTTGATGAATTCCATCTGCTGAAATAAA [G/T] GAAGCTTTACCCCTGTAAACACAATCAATCATCATCACCACATTATTATG (SEQ ID NO: 1)
ОНП_02	8770395	C	T	T	T	T	TTTAATCAAATCCCTAGCTAGGGATTCA TTTACAACCAAGTGACATGTAA [T/C] GTAAATGTTCTATTTTGATCCATACATGTAGCAAAGGGTTAGGGTGATTTA (SEQ ID NO: 2)
ОНП_03	9058515	C	T	T	T	T	TGAGATGGTAAATTTAAACTAATATAAAATCCTAAATATAAGTAACAAAA [T/C] GTATTACAACCTTTATAACCATAAAATTA TCATAGGAACCAAATTTTTAG (SEQ ID NO: 3)
ОНП_04	9192324	C	T	T	T	T	AAACAGCAGCTCAAACTCAGCTTCTTCATCATCTTCTAATTAAAGACTT [T/C] GAATTTCTTCTTTGTATAACCAATCAAACCAATCTTCTTTTGGTTTGTGG (SEQ ID NO: 4)
ОНП_05	9624895	G	A	A	A	A	ACTATTTCTTGCAGTGTTTAGTATAATT TATTGGAAAATTGCAATGGACG [A/G] CTATTTTAGCAATAATAATTAATGATATAGCAACATTTTAAAAAATTGCA (SEQ ID NO: 5)
ОНП_06	9792649	A	C	C	C	C	TATTACTATTTTTGCTCAACTTCATTTCAAACAACTCAAACGGATCTTA [C/A] T AAAATAAGATGATTCTCTCTCTCAAATCAACTAGTTATCAAGCAAAAT (SEQ ID NO: 6)
ОНП_07	10086907	A	T	T	T	T	TTGTTTATTTAGAAAGACTTTAACAAAAATCAATTTATTTAGAAAGACCTAA [T/A] ATTGAATCATATATACAACTAATTATATTAAGTATGGAATAATGAGGCC (SEQ ID NO: 7)
ОНП_08	10091801	G	A	A	A	A	ATAATCAAATCTAAACAATCGTGTACTAATTCAAACAATTAAATCTAAAT [A/G] A

							TCGTGTACCAAGTCTGATCGTTTACCAA AAAAATCTTGAAAAACATCT (SEQ ID NO: 8)
ОНП_09	10260090	A	G	G	A	G	ACAAACAAGAAACAACAACACTACAAATTC GGGTCCCTCAAATCAATAATGCT [G/A] A GTATTGAAGAAAAAATACAACAATTTGC TCCACTCAAGAAAAATATTGC (SEQ ID NO: 9)
ОНП_10	10780728	G	C	C	C	C	AATATTGTAAGTAAATGGACATTCAGC ACTATAATTAAGAAACAATTAA [G/C] T AATCAAATTTAATAAATGCATAGTTGCA TCCTCTTTTAAACCTTTTTCT (SEQ ID NO: 10)
ОНП_11	11783787	G	C	C	C	C	TATCAAATACAAAGTAAGTTGTATCCAC AATGTTACCAGGATAAGGTACC [G/C] A GCCTTATCCTTATATTATAGACCCTTTA AGCTAATCTTGAACATAGATC (SEQ ID NO: 11)
ОНП_12	13350546	G	C	C	C	C	TCTTTCCCCTGTCCAAACAGGAAATGAC ATTTTTTTTAGCTATCAATACAA [C/G] C AAAGATTAATGCACTGTACCATAATCCT TGAGAGTGATCCTAATGAAAT (SEQ ID NO: 12)
ОНП_13	13881857	G	T	T	T	T	ATCAGTAACGTTGCCTATGGATCCCAAT CTAAACTCTCAAAGATGAAG [T/G] A AAATTCATTGTTGACGAGGATATCACTT GCTACACAAGATTGATTGGAA (SEQ ID NO: 13)
ОНП_14	14492460	G	A	A	A	A	AGGAACGTAAGTGAAAGATCAAAGGACA TTTTTTTTTTCTTTTATCCGAT [A/G] A GCATACCAAAACAAATCTGAGAGGTACG GTAAGAGTAGGTAGTTCAAAT (SEQ ID NO: 14)
ОНП_15	15379562	T	C	C	T	C	CAACTATTTCCCTTTATATTGTTCTGTT TTAAAAAATATTTCCCTTTC [T/C] T CAATTTCCCTTTCTTTACATATTTTAAA TGTTAGTCTAAAAATAAATGA (SEQ ID NO: 15)
ОНП_16	16209127	A	G	G	G	G	TGAACTAATTTAAAATTTTTTAAAAATA TTTAAAATTATCAGTTTGGTTT [G/A] C ACCCCTAATGTATGGTAAATTATATGAA AGAAAAATAATTTGGTTAAG (SEQ ID NO: 16)

Таблица 2 – ОНП-маркеры для ЛКП1.2 на хромосоме 1

ОНП-маркер	Физическое положение ОНП (количество оснований)	ОНП-гаплотип рекуррентного родителя	ОНП-гаплотип фрагмента интрогрессии от донора (как в NCIMB43745)	CGN 2226 3	PI605 996	CGN 2293 2	Выделена последовательность с ОНП (на нуклеотиде 51 SEQ ID No)
ОНП_17	22942981	T	C	C	C	C	CAGTGAATAGAAATAGAGAACTGACCTT GAATAGAGTCAACCATCGTGAT [T/C] G AGTCCTCTTTCCACAAAATAAGGATACC ACCCGAAGAACCATAAGCTTC (SEQ ID NO: 17)
ОНП_18	23015144	T	G	G	G	G	TGAGGAACCAGCATCTTCTTGATTTTG TCACCATATGGAGGAAAGATGA [G/T] G CAAATTTCTGATTTGGAACTCCATTTT CACATAGAAAAGGGAATACTT (SEQ ID NO: 18)
ОНП_19	23039745	A	G	G	G	G	AACTATTTAAATTAATAATTTAGTTGTT TTTACTTCCAACTAAGTTATA [G/A] G TTTTATTACTAATATTCATATTTATATT GAGATCAATAGATGATAATTT (SEQ ID NO: 19)
ОНП_20	23421850	G	T	T	T	T	ACATATTTAAATGTTGGTTGGAGAGAAT CTATTTGTTCAATTCACCTAAA [T/G] A CCTAATTAATAATTTTCACATACAAACA ATATTTATTTTTTACAAAAAT (SEQ ID NO: 20)
ОНП_21	23651359	A	G	G	G	G	TGGGGAACACTACTCGGGGCCTGCCACA TTCATGGAAATGTTGAGCTTGC [G/A] G AAGTGGCATCAAAACATCTATTTGATTT AGACCCTTTGAACCTCTGGGTA (SEQ ID NO: 21)
ОНП_22	23844859	C	G	G	G	G	GGAATCGTATTTCTAAATGGGGTTTTGT GTATGTAGAGAACTTTGTTTTT [C/G] A TATGGGGTTATCTTCCAAAAGCAATCC ATTGGTTTAGGAAGCATTTTC (SEQ ID NO: 22)
ОНП_23	23980973	C	T	T	T	T	TTAAATGAATTAGTCACCCCTTAAGCTCT CCTAACTTGTGAGCTTCTACT [C/T] G GTGATTTACATGTATGAGCTTAATGTCC TTTCTAATTATGCTTAGCTTA (SEQ ID NO: 23)
ОНП_24	24059623	G	C	C	C	C	TTATAAACATAACACTTTAAGATATGG TAATTGAATAGACACATAAAAC [C/G] A

							AAAAGGTTTAAACCAAATATGTATTACT TTATCTGCCACTAAATTAAGT (SEQ ID NO: 24)
ОНП_25	24180637	G	A	A	A	A	GCTAATAAACTCGTATAATTTATCGTTG ATAGACCAATTTTTTACAACATA[G/A]T TTATTAGTGATAGACTTTATCATTGATA GAATTTGACAAATTTTGCTAT (SEQ ID NO: 25)
ОНП_26	24200736	T	C	C	C	C	AAAGGGAGTTCATGGTTTTCAAAGTCAC ACATACCAAGTGAATCTTGGAG[T/C]A GTTGTGTGAGTTTACTGTTCCCTATAAGG GACGTGTGCATTCCCTTAGAGC (SEQ ID NO: 26)
ОНП_27	24205819	A	C	C	C	C	TTCCTTCTCTCACTTGTAAGATTTCTTT TATTATTATTACAAACAAAAT[C/A]T AAGTTTTTCTTCTTTCTTTTTTCCCTTC TTCCCACCATGGTCCATTGCT (SEQ ID NO: 27)
ОНП_28	24342052	T	C	C	C	C	AAAATGTTACAATTTTACCATTGACATC TAGATTTTATTTCAATTTGGTC[T/C]C TAGATTACATGTCAATCTCAAATTTTCA CGAAATACTTATTAATGTTAA (SEQ ID NO: 28)
ОНП_29	24816687	G	C	C	C	C	TATACTAAAATATTTACCGTATATAATT AAATTTTAAATGTTATCATAAC[G/C]T TTGTTATATTTTATAAATATTTTGTTAA ATTTGTGATTTTGTGATAATTT (SEQ ID NO: 29)
ОНП_30	25023580	G	A	A	A	A	GGGCTCTAAGTTTAGTTATGAAGTTTGG ATTGGAAATTTGTGTTAGGACA[A/G]T GGAATAAGTTAGACAATTGTGTTATGAC AATGCAATGAGTTAGATATTT (SEQ ID NO: 30)
ОНП_31	25543032	T	G	G	G	G	CGTTGGTTTGAATTATATAGTCTATTTT TTAAAAAATAGTTGGATCATA[G/T]A ATAAATTAATATTTTGAATTACATCTA AAAAGTAAAAATGAAGAGAAT (SEQ ID NO: 31)

Таблица 3 – SNP маркеры для ЛКП2.1 на хромосоме 2

ОНП-маркер	Физическое положение ОНП (количество оснований)	ОНП-гаплотип рекуррентного родителя	ОНП-гаплотип фрагмента интрогрессии от донора (как в NCIMB43745)	CGN 2226 3	PI605 996	CGN 2293 2	Выделена последовательность с ОНП (на нуклеотиде 51 SEQ ID No)
ОНП_32	15218569	C	T	T	T	T	CATTGGATTTGTAGCCAAAACGTAGTATCTGAAGTTATTGGTATGCCGCA[T/C]ATATAAATTCATTAGTTTGCACCATGCACAAGGGGGACAAATATAATTTT (SEQ ID NO: 32)
ОНП_33	15495712	C	T	T	T	T	GATTCATTCTCTCTTTTTTTATTTTTTAAACATATTTCCCTCCAGAAAATG[T/C]ACAAGGTGGGAGAAATTTGGATGTGACAA TTCCACAATCTATCACTCAG (SEQ ID NO: 33)
ОНП_34	15759464	T	C	C	C	C	AGATCTAGCTCATGACATTTTGTAACCTTCCAAAATTTGAACGTCAAATCC[C/T]AAAGTAATGATATAGTTGTTTGATGTGATTTAGTGTGATCCTACATCTGT (SEQ ID NO: 34)
ОНП_35	16014805	T	A	A	A	A	GGAAACCCTACTTTTAGCTTTGGCTTGAAGTCCTTATAAAAAATAAATAAA[A/T]AAATAAAATAAAATAGCTTTGGCTTGAAATCCAAGGTTGGGATGCCAGAG (SEQ ID NO: 35)
ОНП_36	16349730	C	T	T	T	T	AATGCAAAGAGTATAATTCTTAGTCAAGTTGTGAGAGAAAAACATGTTTT[T/C]AAAGGGTTAATTTTCATAAATATAAATAAATCGGAAAATATTTATGACTCG (SEQ ID NO: 36)
ОНП_37	16378312	T	C	C	C	C	CATTTCAGACATGATTGGAGGCATAATCCATAGTTGACAGAGTGGTATGTT[C/T]AGAGTTACATCATCTGGCATCATCAAGGTAGTGGCTAAATTCGCCAATGC (SEQ ID NO: 37)
ОНП_38	16817201	T	G	G	G	G	GATTTTAAATCCATAAATCTATTAAAGAAAACCTGGGGGTAAATTTTTTTTT[G/T]ACTCCATAATGGTAACAAATAGAGTCAATTAAAAAAATTTAAATATTTAT (SEQ ID NO: 38)
ОНП_39	17009321	T	C	C	C	C	AGAAATTTAGAAAGAAGGAAAAGAAAAAACCTTCCTTTCTCATTCATCCATC[C/T]A

							TCGCTTCTGCTATACAAATTGAAAATA TGGCTTTTCTCTCCATAGAA (SEQ ID NO: 39)
ОНП_40	17332159	A	G	G	G	G	ATGAAAATGAAATGGTTCATCCTCTTTA CATCAAATTCACAATCTTGTAAG[G/A]A CTAAAATTATGGTGGAGGGACTACGGTG GTTTTTCTCTCCATAATTTT (SEQ ID NO: 40)
ОНП_41	17569912	C	T	T	T	T	TTTATCTACGGTCTTATATGTTCAACTC CTCAAATGGAAAAATGCAAGGC[T/C]T TGTTGTTCTTGTTTCTTGTTTCATATATAT CTTCATGGAAGATAAGGTTTT (SEQ ID NO: 41)
ОНП_42	17907091	T	A	A	A	A	TTTCAAGAACATTCGAAAAAGAACTTG CTCCACGGTGCTTATAGATAAG[A/T]A CAAAAATGGAATGTTAAAAGAAACAATA AAATATTAGTTAGTAATTATT (SEQ ID NO: 42)
ОНП_43	18379675	G	T	T	T	T	ATATTTGTTATAATGTGTCATTTCCAAT AATTTCTTTTTTTCATAGTATT[T/G]T TTTTTTCTACTAGGATGAGTCATAGTTT TTTCTAGTTTTCTTACCTAAA (SEQ ID NO: 43)
ОНП_44	18479446	C	T	T	T	T	AACCAAATAGATTTATTTGAAAAACAAT TAAGATATATTAGTGCACCTCC[T/C]G ATCTTGTTCTCCTGCTTGTTACTTAACC TATCAGTGCACCAAGACTAAT (SEQ ID NO: 44)
ОНП_45	18719413	A	G	G	G	G	ACTTTCAAATTTTGTCTTTTATAATC TATACAATGGGAATGAGTTGGT[G/A]C ACCCAATTATCCTAATTAGATTAACATA ATCTCATCACCTTCTCATCC (SEQ ID NO: 45)
ОНП_46	18897159	G	A	A	A	A	AAAATTAAAGAAAATAATCGAAAGGTCC ATTTTCGGTGAACATTTTTACT[G/A]T AAGAACTAAAACAAACCGAGTAAAATGA ACCAAAATCAAGAGTATAAAG (SEQ ID NO: 46)
ОНП_47	19535432	A	G	G	G	G	AAGGGGAAATGGTGTACCTGTATTTCA ATCAAATTGCAAAGAATGCAAA[G/A]A ATGCAAGAATGGGAGGACCAACAAATGC AGTGTTTTTGGGGGCAAACT (SEQ ID NO: 47)

Таблица 4 – ОНП-маркеры для ЛКПЗ.1 на хромосоме 3

ОНП-маркер	Физическое положение ОНП (количество оснований)	ОНП-гаплотип рекуррентного родителя	ОНП-гаплотип фрагмента интрогрессии от донора (как в NCIMB43745)	CGN 2226 3	PI605 996	CGN 2293 2	Выделена последовательность с ОНП (на нуклеотиде 51 SEQ ID No)
ОНП_48	3637	C	A	A	A	A	TTTGGCGCTACCGTCGTACACCACGAAC AAGCCCCACTCGACCCCTAGGC [C/A] T GGGCTATTTTTATGTGTCATACAATGTG TAATATATATGGGTTGCCACA (SEQ ID NO: 48)
ОНП_49	9568	A	C	C	C	C	TAACTCGGTTTGGGAATACAGTTTTGGG CTTTTAGATTACAAAAATTC [A/C] G CCCATTACGCCCTTTATGGATGAAAAA TTCGAATTGGAATTAAGTGAC (SEQ ID NO: 49)
ОНП_50	10011	T	C	C	C	C	CTGCCAAAGTGCGGTTGTAGAAGGAAGA TAAATATTTGACCCTCTCTTGA [T/C] T GGGAAATGAAGTTGTGGAAGACCATAAA GTTGAAAAGAAGAAATGGTGG (SEQ ID NO: 50)
ОНП_51	364308	T	C	C	C	C	AACACAATCACTTTGATTATTTAATC TGTATTTTTTGAGAAATAATCC [T/C] T TGTTTCGTCTTGTGGACAATTTCTTGTA TTTAAAAAATTATTGAAAATA (SEQ ID NO: 51)
ОНП_52	376848	C	T	T	T	T	ATTGTTATTCTGAAGCCTGGTCCTGATA AGATGTGCGTCCATGAAGAGCA [C/T] T GGAAAAATTCCTCAGGGAATTTAGGAGA AAGAGTTAGTATTGAAGATTT (SEQ ID NO: 52)
ОНП_53	438098	A	C	C	C	C	CGCCATGTGTCCAAAAGGTCTCTGCATC GCCGGGTCGGGGTTATGTGGAT [C/A] T GGATTTCTGAGGCGATGCGGTTTCGGATC TAACATTTGGGAACCCCTAACG (SEQ ID NO: 53)
ОНП_54	515886	T	C	C	C	C	ATCTTCATTTTTTCTTTTCTTTTATGA TTTACATCTATCAACAATTTT [C/T] C GTTTAGTTCATTACAAAAGAAAAAGGG TCTTCTGTTCTTGGTTTTTTT (SEQ ID NO: 54)
ОНП_55	582793	T	C	C	C	C	CAGAGTAATTTTTTCAATTGTTTGATAA GCAACACTAGTGATAAAAAAGA [T/C] C

							ACTTACTAGTTGTGAATTTGATAGAATT GCTAATCAAATTTGTGAATAT (SEQ ID NO: 55)
ОП_56	741882	C	G	G	G	G	ACCAAATTTTCATTGGAATACAAATAAAC ATTTGGGGAAGATATATTGAAG [G/C] T TGTAAGTGAAGGTGGACAAAAACAAAAG TTTAATATAAATTTATTTGGA (SEQ ID NO: 56)
ОП_57	1233995	T	C	C	C	C	CTCCTAAATTATAATAAAGAGGGTTTTG GAAGACATGGGAGGGAGAGGTT [T/C] A GTATTTGCTTCCTCTTACACCCAAACAG CTTTTTCTTGGTCCCTGTTTC (SEQ ID NO: 57)
ОП_58	1424020	C	T	T	T	T	CTCTTATGATTTATCAGTgAtAGATcAA TATTTCCAACACGATCTATTAG [T/C] G ATAAACTTCTATCATTGTTAGATTTTGA CAGAATTTGTTATATTTGTAA (SEQ ID NO: 58)
ОП_59	2080392	C	T	T	T	T	GTTTCGATACCATGTTAAATTAAGTTTTTC ATTGAATGAATGAAAGTAAATT [T/C] G ATAACATGAATCAATACTCAAACAAAAG AGATATATTTCTAGAGAGGTA (SEQ ID NO: 59)
ОП_60	2731901	A	G	G	G	G	AACTTCTACCAACTTCTATCAGTGTAC TTAAGGGTGAGTTAGCCGATCG [A/G] C ATTAACAAAGtGGTCAGACGAAGATAAG GAAACGTTCAACTTATTCAAA (SEQ ID NO: 60)
ОП_61	3209067	G	A	A	A	A	TACACTAACATCTTCGTGAAATGAATTC TCTTTACTACCAAGCTCAAGGC [G/A] C TTGATTTTTTCTGAACTCAGCACCCA TTCTAACATGAGAATCCATGT (SEQ ID NO: 61)
ОП_62	3885803	C	A	A	A	A	ACCAATTTTTTAAAAGTAATCTAAATTG CCAATAGCTTCAATTGCAACTG [A/C] T TTGCCATTGCCACATAGATGAATCTTT CAGCATCATTTGGCGGTTCGAC (SEQ ID NO: 62)

Средний индекс резистентности к ToLCNDV-ES исходного донора, рекуррентного родителя и интрогрессионной линии F3, содержащей все четыре ЛКП, представлен ниже в Таблице 5.

Таблица 5

Генотип	1-ая оценка среднего индекса – 25 дни	2-ая оценка среднего индекса – 32 дни	3-я оценка среднего индекса – 46 дни	Оптическая плотность по результатам твёрдофазного ИФА	Заключение по результатам твёрдофазного ИФА
Дикий донор интрогрессии	9,0	9,0	9,0	0,07	отриц.
Рекуррентная родительская элитная линия C13_4231-7	5,1	4,2	5,3	1,57	полож.
Восприимчивое контрольное растение	5,0	6,0	4,0	1,80	полож.
NCIMB 43745 с ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1	9,0	9,0	9,0	0,07	отриц.
Положительный контрольный результат твёрдофазного ИФА				0,80	полож.
Отрицательный контрольный результат твёрдофазного ИФА				0,07	отриц.

В другом эксперименте ряд диких доноров также были протестированы на предмет резистентности к ToLCNDV-ES. При этом использовался тот же протокол

заболеваемости, что описан выше, за исключением того, что визуальную оценку проводили позже после инокуляции, используя только две временные точки. Результаты приведены в Таблице 6 ниже.

Таблица 6

Генотип	Средний индекс 1 оценка 1 – 39 дни	Средний индекс 2 оценка 1 – 55 дни
PI605996	9,0	9,0
CGN22263	8,3	7,0
CGN22932	9,0	8,4
Восприимчивое контрольное растение	3,3	2,5

Поскольку указанные дикие доноры имеют идентичный гаплотип ОНП в случае с четырьмя ЛКП (ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1), за исключением того, что ОНП_09 и ОНП_15 PI605996 отличаются, предполагается, что такие доноры содержат одинаковые ЛКП (или их варианты), придающие резистентность к ToLCNDV-ES.

Пример 4

В заявке WO2021019069 (и приоритетном документе WO2021019272) описаны растения огурца, которые являются резистентными к Нью-Дели вирусу курчавости листьев томата и содержат первый ЛКП – ЛКП1 – на хромосоме 1 и второй ЛКП – ЛКП2 – на хромосоме 2, при этом оба получены из устойчивого донора CUC29. Заявляется, что двенадцать ОНП-маркеров связаны с ЛКП1 (Таблица 3), а 15 с ЛКП2 (Таблица 4), при этом нуклеотид, указывающий на «устойчивость», указан как Т-аллель в Таблицах 3 и 4. Положение ОНП приведено относительно генома китайского длинного сорта V2. Такое положение соответствует китайскому длинному геному V3, как указано в Таблице ниже и позволяет сравнить положение на хромосомах.

ОНП-маркеры в WO2021019069 были проанализированы в составе рекуррентной родительской элитной линии огурца и доноре, который является резистентным к ToLCNDV-ES и использовался в примерах выше. ОНП-маркеры, которые различаются у донора CUC29 и у резистентного донора по настоящему изобретению, выделены жирным в Таблице 7 ниже и на Фигуре 3.

Таблица 7

WO2021019069 маркер	Хромосома	Положение в геноме китайского длинного сорта V3	ОНП-гаплотип донора CUC29 описан в WO2021019069	Резистентный донор, используемый для интрогрессии ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1	Рекуррентная родительская элитная линия C13_4231-7
CU0002005	Xp_01	24370641	A	R	A
CU0000824	Xp_01	24376744	G	T	T
CU001679	Xp_01	24418455	A	C	C
CU0000195	Xp_01	24425353	G	C	C
CU0000697	Xp_01	24551586	A	R	G
CU0000649	Xp_01	24559663	G	C	T
CU0002031	Xp_01	24636150	A	A	G
CU0000366	Xp_01	25541454	A	na	na
CU0000554	Xp_01	25707202	A	T	G
CU0000744	Xp_01	25715858	A	A	G
CU0006168	Xp_01	26222543	G	G	G
CU001983	Xp_01	26927420	G	G	G
CU0000463	Xp_02	17392473	A	A	G
CU0001997	Xp_02	17489172	A	A	G
CU0001204	Xp_02	17567541	A	A	A
CU0003652	Xp_02	17619208	A	C	T
CU0002682	Xp_02	17627083	A	na	na
CU0005012	Xp_02	17862600	A	G	G
CU0001371	Xp_02	17869284	A	G	G
CU0002276	Xp_02	18054980	A	A	G
CU0001479	Xp_02	18447612	C	G	T
CU0006476	Xp_02	18462207	A	T	C
CU0003181	Xp_02	18547980	G	C	G
CU0001663	Xp_02	18551116	A	A	G
CU0001531	Xp_02	18597194	A	G	G
CU0001495	Xp_02	18748949	C	G	G
CU0006479	Xp_02	18837247	G	A	G

(нуклеотид R представляет собой 'A' или 'G')

Как видно, резистентный донор использовал для интрогрессии ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1 (для получения NCIMB 43745) имеет нуклеотид/гаплотип ОНП, отличный от CUC29, 5 ОНП на хромосоме 1 и, по меньшей мере, 9 ОНП на хромосоме 2. Кроме того, каждый из других доноров, описанных по тексту настоящей заявки (например, CGN22263, PI605996, CGN22932), имеет, по меньшей мере, 4 нуклеотида

ОНП, которые отличаются от нуклеотидов CUC29 для хромосомы 1, и, по меньшей мере, 6 нуклеотидов ОНП, которые отличаются от нуклеотидов CUC29 для хромосомы 2 (данные не указаны). Следовательно, все доноры ЛКП, описанные по тексту настоящей заявки, являются донорами, отличными от CUC29.

Как видно из Таблицы 7 и как показано на Фигуре 3, маркеры хромосомы 1, описанные в WO2021019069 лежат в области, которая частично перекрывается ЛКП1.2, а маркеры хромосомы 2, описанные в WO2021019069, лежат в области, которая частично перекрывается ЛКП2.1:

Таблица 8

WO2021019069 Хромосома 1 ЛКП	ЛКП1.2 в настоящем документе
От нуклеотида 24370641 до 26927420 на хромосоме 1	От нуклеотида 22942981 до 25543032 на хромосоме 1

WO2021019069 Хромосома 2 ЛКП	ЛКП2.1 в настоящем документе
От нуклеотида 17392473 до 18837247 на хромосоме 2	От нуклеотида 15218569 до нуклеотида 19535432 на хромосоме 2

Тем не менее, также можно видеть, что ОНП-гаплотип маркеров донора CUC29, который является резистентным к ToLCNDV и описан в WO2021019069, полностью отличается от ОНП-гаплотипа донора ToLCNDV-ES, предусмотренного настоящей заявкой. ЛКП1 по WO2021019069 отличается по 5 из 12 ОНП-маркеров, а ЛКП2 по WO2021019069 отличается по 9 из 15 ОНП-маркеров, см. Таблицу 7 выше. Таким образом, донор CUC29, описанный в заявке WO2021019069, содержит нуклеотидную последовательность и ЛКП, отличные от ЛКП, описанных по тексту настоящей заявки.

Как только семена NCIMB43427 (содержащие ЛКП1 и ЛКП2 CUC29) станут доступны для тестирования, в отношении ОНП-маркеров, предусмотренных настоящей заявкой, и фенотипа ToLCNDV будет проведен анализ и сравнение. Особенно, применительно к указанным семенам будут анализироваться нуклеотиды ОНП для маркеров ОНП_29, ОНП_30 и/или ОНП_31, поскольку они находятся в той же области, что и ЛКП1 по WO2021019069, а также применительно к указанным семенам будут анализироваться нуклеотиды ОНП для маркеров ОНП_41, ОНП_42, ОНП_43, ОНП_44 и/или ОНП_45, поскольку они находятся в той же области, что и ЛКП2 по

WO2021019069, см. Фигуру 3. Специалисты прогнозируют, что гаплотип ОНП NCIMB43427 для ОНП_29, ОНП_30 и ОНП_31 не является С – А – G (цитозин – аденин – гуанин). Специалисты также прогнозируют, что гаплотип ОНП NCIMB43427 для ОНП_41, ОНП_42, ОНП_43, ОНП_44 и ОНП_45 не является Т – А – Т – Т – G (тиамин – аденин – тиамин – тиамин – гуанин).

Таким образом, в одном аспекте растения и части растений, указанные по тексту настоящей заявки, не содержат ЛКП1 и/или ЛКП2 CUC29 или NCIMB43427.

Пример 5

Материалы и методы

Генотип использованных материалов	Средний индекс заболеваемости 25 дни	Средний индекс заболеваемости 32 дни
Депонирование NCIMB43744 (восприимчивая линия BC1F4 без ЛКП)	2,2	2,4
Депонирование NCIMB43745 (линия F3 со всеми четырьмя ЛКП, интрогрессированными от дикого донора)	9,0	9,0
ЛКП дикого донора	9,0	9,0

В полевых условиях выращивали восемь повторностей каждого генотипа. Отбор проб листьев выполнялся на 25-й и 32-й дни. Образец листа представлял собой первый развернутый лист с верхней части растения.

Для количественной оценки вирусной нагрузки и расчета кратности резистентности с помощью 2-($\Delta\Delta$ Ct) выполняли кПЦР (количественная ПЦР, TaqMan).

Статистический анализ был проведен по значениям $\Delta\Delta$ Ct с тем, чтобы определить значительную разницу вирусной нагрузки между генотипами.

Анализ проводили с использованием чувствительной линии депонированных семян BC1F4 без каких-либо ЛКП в качестве эталонной линии.

Результаты:

Растения дикого донора и депонированных семян NCIMB43745 со всеми ЛКП имели равномерную низкую вирусную нагрузку, со значениями 2-($\Delta\Delta$ Ct) в $2,7 \times 10^4$ и $5,3 \times 10^3$ -кратным снижением вирусной нагрузки, измеренной по сравнению, соответственно, с восприимчивыми растениями в ходе первой и второй оценки.

На Фигуре 4 показаны результаты в виде коробчатой диаграммы, где масштаб показывает кратность изменений. Временная точка 1 – 25 дни, а временная точка 2 – 32 дни.

Пример 6

Для определения эффекта отдельных ЛКП и комбинаций ЛКП был разработан ряд линий, оценка которых выполнялась в полевых испытаниях. Линии были гомозиготны по ЛКП.

Использовали тот же порядок проведения тестов, что и в примере 5, с восемью повторами на генотип. Анализ ToLCNDV-ES проводили, как в примере 1, а оценку заболеваемости ToLCNDV проводили, как в примере 1, в три временные точки, при этом первая из них приходилась на 25 дни. СП = стандартная погрешность; значения r учитывались только при первой оценке относительно восприимчивого контрольного генотипа, у которого отсутствуют все ЛКП.

Средний индекс заболеваемости ToLCNDV для каждой линии представлен ниже.

Генотип линии	Средний индекс заболеваемости в 1-й временной точке	Средний индекс заболеваемости во 2-й временной точке	Средний индекс заболеваемости в 3-й временной точке	СП_первая оценка	СП_вторая оценка	СП_третья оценка	значение r _при отсутствии ЛКП /_первая оценка
отсутствие ЛКП	2,21875	2,1875	2,4375	0,28087563	0,2612319	0,24545131	0,99727214
отсутствие ЛКП	2,5	2,1875	2,40625	0,28087563	0,2612319	0,24545131	
рекуррентный родитель, отсутствие ЛКП	2,53125	2,4375	2,46875	0,28087563	0,2612319	0,24545131	1

Один ЛКП							
ЛКП3.1	3,44598778	3,63519073	3,54519655	0,2832296	0,26349841	0,24695847	0,26822235
ЛКП3.1	3,57798464	3,46347842	3,71207562	0,28563966	0,26911944	0,24849181	0,14530372
ЛКП1.1	3,88914926	3,81845562	4,5625	0,2832296	0,26349841	0,24545131	0,01429821
ЛКП2.1	4,5625	4,25	4,32170245	0,28087563	0,2612319	0,24695851	0,00010074
Два ЛКП							
ЛКП1.1 + ЛКП3.1	4,59375	4,78125	5	0,28087563	0,2612319	0,24545131	0,00011207
ЛКП1.1 + ЛКП3.1	5,09375	4,48854165	4,97497026	0,28087563	0,26582085	0,24849179	0,00012332
ЛКП1.1 + ЛКП3.1	5,25	5,40625	5,10853475	0,28087563	0,2612319	0,25005196	0,00013451
ЛКП1.1 + ЛКП2.1	6,1875	6,15625	6,96875	0,28087563	0,2612319	0,24545131	0,00014563
ЛКП2.1 + ЛКП3.1	6,4375	6,5625	5,22157144	0,28087563	0,2612319	0,24849178	0,00026925
ЛКП1.1 + ЛКП2.1	6,43878309	6,11045919	6,50145167	0,2832296	0,26349844	0,2469585	0,00025791
ЛКП1.1 + ЛКП1.2	6,53125	6,71875	6,875	0,28087563	0,2612319	0,24545131	0,00028057
ЛКП1.1 + ЛКП2.1	6,65625	6,25	6,75	0,28087563	0,2612319	0,24545131	0,00015671
ЛКП1.2 + ЛКП2.1	6,6875	6,75	6,52310873	0,28087563	0,2612319	0,24695851	0,00029186
ЛКП2.1 + ЛКП3.1	7,0480117	7,16418787	5,52310873	0,28322963	0,26349844	0,24695851	0,00030312
ЛКП2.1 + ЛКП3.1	7,40625	7,21875	5,19738114	0,28087563	0,2612319	0,2469585	0,00036124
ЛКП2.1 + ЛКП3.1	7,96875	7,59375	6,6875	0,28087563	0,2612319	0,24545131	0,00035451
Три ЛКП							
ЛКП1.1 + ЛКП2.1 + ЛКП3.1	8,09375	7,71875	7,5	0,28087563	0,2612319	0,24545131	0,00020822

ЛКП1.1 + ЛКП2.1 + ЛКП3.1	8,3125	8,03125	7,75	0,28087563	0,2612319	0,24545131	0,00020243
ЛКП1.1 + ЛКП2.1 + ЛКП3.1	8,34375	8,15625	7,65625	0,28087563	0,2612319	0,24545131	0,00020628
ЛКП1.1 + ЛКП2.1 + ЛКП3.1	8,34375	7,875	8,0625	0,28087563	0,2612319	0,24545131	0,00036465
ЛКП1.1 + ЛКП2.1 + ЛКП3.1	8,4375	8,28125	7,78125	0,28087563	0,2612319	0,24545131	0,0003512
ЛКП1.1 + ЛКП2.1 + ЛКП3.1	8,5625	8,34375	8,0625	0,28087563	0,2612319	0,24545131	0,00020435
ЛКП1.1 + ЛКП2.1 + ЛКП3.1	8,59375	8,46875	7,90625	0,28087563	0,2612319	0,24545131	0,00035786
ЛКП1.1 + ЛКП2.1 + ЛКП3.1	8,59375	8,5625	8,125	0,28087563	0,2612319	0,24545131	0,00021019
ЛКП 1.1.+ ЛКП1.2 + ЛКП2.1	8,71875	8,59375	8,375	0,28087563	0,2612319	0,24545131	0,00021218
Четыре ЛКП							
ЛКП1.1 + ЛКП1.2 + ЛКП2.1 + ЛКП3.1	8,9375	9	8,96875	0,28087563	0,2612319	0,24545131	0,00034791
ЛКП1.1 + ЛКП1.2 + ЛКП2.1 + ЛКП3.1	8,9375	8,78125	8,70358421	0,28087563	0,2612319	0,24849178	0,00020054
Дикий донор ЛКП	9	8,96875	8,96875	0,28087563	0,2612319	0,24545131	0,0003681

Как видно, четыре ЛКП обеспечивают наиболее высокий уровень резистентности, при этом комбинация трех ЛКП также обеспечивает уровень резистентности выше 8,0. Отдельные ЛКП дают небольшое увеличение резистентности, а комбинации двух ЛКП обеспечивают более высокое увеличение

резистентности по сравнению с одиночными ЛКП. Уровень резистентности сохранялся в течение трех оценок, за исключением комбинации ЛКП2.1 и ЛКП3.1, для которого в третьей временной точке оценки было зафиксировано снижение.

Таким образом, предпочтительными комбинациями являются растения, содержащие, по меньшей мере, три ЛКП, выбранных из числа ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1. Другой предпочтительной комбинацией является ЛКП1.1, по меньшей мере, с одним другим ЛКП, предпочтительно, по меньшей мере, с двумя другими ЛКП, выбранными из числа ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1. Кроме того, конкретным вариантом реализации является также ЛКП3.1, по меньшей мере, с одним другим ЛКП, предпочтительно по меньшей мере с двумя другими ЛКП, выбранными из числа ЛКП1.1, ЛКП1.2 и ЛКП2.1.

Формула изобретения

1. Посевное растение *Cucumis sativus* сорт *sativus*, содержащее, по меньшей мере, два фрагмента интрогрессии на хромосомах 1, 2 и/или 3 от донора дикого огурца, **отличающееся тем**, что один из указанных фрагментов содержит ЛКП1.1, или указанное растение содержит, по меньшей мере, три фрагмента интрогрессии на хромосоме 1, 2 и/или 3, при этом каждый из указанных фрагментов интрогрессии содержит locus количественного признака (ЛКП), выбранный из числа ЛКП, обозначенных как ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и ЛКП3.1, отличающихся тем, что ЛКП1.1 расположен на хромосоме 1 между маркером однонуклеотидного полиморфизма ОНП_01 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 1 и ОНП_16 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 16, ЛКП1.2 расположен на хромосоме 1 между ОНП_17 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 17 и ОНП_31 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 31, ЛКП2.1 расположен на хромосоме 2 между ОНП_32 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 32 и ОНП_47 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 47, и ЛКП3.1 расположен на хромосоме 3 между ОНП_48 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 48 и ОНП_62 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 62, отличающиеся тем, что данные ЛКП придают повышенную резистентность к Нью-Дели вирусу курчавости листьев томата ToLCNDV-ES и

причем указанный фрагмент интрогрессии на хромосоме 1, содержащей ЛКП1.1, содержит гаплотип ОНП или генотип ОНП из, по меньшей мере, 5, предпочтительно, по меньшей мере, 10 маркеров, выбранных из группы, состоящей из:

- a) TX или TT генотип для маркера ОНП_01 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 1 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 1;
- b) TX или TT генотип для маркера ОНП_02 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 2 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 2;

- c) TX или TT генотип для маркера ОНП_03 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 3 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 3;
- d) TX или TT генотип для маркера ОНП_04 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 4 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 4;
- e) AX или AA генотип для маркера ОНП_05 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 5 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 5;
- f) CX или CC генотип для маркера ОНП_06 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 6 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 6;
- g) TX или TT генотип для маркера ОНП_07 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 7 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 7;
- h) AX или AA генотип для маркера ОНП_08 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 8 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 8;
- i) GX или GG генотип для маркера ОНП_09 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 9 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 9; или AX или AA генотип для маркера ОНП_09 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 9 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 9;

- j) CX или CC генотип для маркера ОНП_10 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 10 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 10;
- k) CX или CC генотип для маркера ОНП_11 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 11 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 11;
- l) CX или CC генотип для маркера ОНП_12 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 12 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 12;
- m) TX или TT генотип для маркера ОНП_13 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 13 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 13;
- n) AX или AA генотип для маркера ОНП_14 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 14 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 14;
- o) CX или CC генотип для маркера ОНП_15 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 15 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 15; или TX или TT генотип для маркера ОНП_15 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 15 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 15;
- p) GX или GG генотип для маркера ОНП_16 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 16 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 16;

причем указанный фрагмент интрогрессии на хромосоме 1, содержащей ЛКП1.2, содержит гаплотип ОНП или генотип ОНП из, по меньшей мере, 5, предпочтительно, по меньшей мере, 10 маркеров, выбранных из группы, состоящей из:

- a) CX или CC генотип для маркера ОНП_17 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 17 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 17;
- b) GX или GG генотип для маркера ОНП_18 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 18 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 18;
- c) GX или GG генотип для маркера ОНП_19 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 19 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 19;
- d) TX или TT генотип для маркера ОНП_20 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 20 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 20;
- e) GX или GG генотип для маркера ОНП_21 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 21 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 21;
- f) GX или GG генотип для маркера ОНП_22 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 22 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 22;
- g) TX или TT генотип для маркера ОНП_23 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 23 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 23;

- h) CX или CC генотип для маркера ОНП_24 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 24 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 24;
- i) AX или AA генотип для маркера ОНП_25 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 25 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 25;
- j) CX или CC генотип для маркера ОНП_26 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 26 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 26;
- k) CX или CC генотип для маркера ОНП_27 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 27 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 27;
- l) CX или CC генотип для маркера ОНП_28 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 28 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 28;
- m) CX или CC генотип для маркера ОНП_29 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 29 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 29;
- n) AX или AA генотип для маркера ОНП_30 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 30 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 30;
- o) GX или GG генотип для маркера ОНП_31 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 31 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 31;

причем указанный фрагмент интрогрессии на хромосоме 2, содержащей ЛКП2.1, содержит гаплотип ОНП или генотип ОНП из, по меньшей мере, 5, предпочтительно, по меньшей мере, 10 маркеров, выбранных из группы, состоящей из:

- a) TX или TT генотип для маркера ОНП_32 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 32 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 32;
- b) TX или TT генотип для маркера ОНП_33 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 33 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 33;
- c) CX или CC генотип для маркера ОНП_34 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 34 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 34;
- d) AX или AA генотип для маркера ОНП_35 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 35 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 35;
- e) TX или TT генотип для маркера ОНП_36 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 36 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 36;
- f) CX или CC генотип для маркера ОНП_37 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 37 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 37;
- g) GX или GG генотип для маркера ОНП_38 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 38 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 38;

- h) CX или CC генотип для маркера ОНП_39 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 39 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 39;
- i) GX или GG генотип для маркера ОНП_40 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 40 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 40;
- j) TX или TT генотип для маркера ОНП_41 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 41 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 41;
- k) AX или AA генотип для маркера ОНП_42 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 42 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 42;
- l) TX или TT генотип для маркера ОНП_43 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 43 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 43;
- m) TX или TT генотип для маркера ОНП_44 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 44 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 44;
- n) GX или GG генотип для маркера ОНП_45 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 45 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 45;
- o) AX или AA генотип для маркера ОНП_46 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 46 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 46;

- p) GX или GG генотип для маркера ОНП_47 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 47 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 47;
- причем указанный фрагмент интрогрессии на хромосоме 3, содержащей ЛКПЗ.1, содержит гаплотип ОНП или генотип ОНП из, по меньшей мере, 5, предпочтительно, по меньшей мере, 10 маркеров, выбранных из группы, состоящей из:
- a) AX или AA генотип для маркера ОНП_48 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 48 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 48;
- b) CX или CC генотип для маркера ОНП_49 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 49 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 49;
- c) CX или CC генотип для маркера ОНП_50 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 50 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 50;
- d) CX или CC генотип для маркера ОНП_51 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 51 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 51;
- e) TX или TT генотип для маркера ОНП_52 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 52 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 52;
- f) CX или CC генотип для маркера ОНП_53 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 53 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 53;

- g) CX или CC генотип для маркера ОНП_54 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 54 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 54;
- h) CX или CC генотип для маркера ОНП_55 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 55 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 55;
- i) GX или GG генотип для маркера ОНП_56 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 56 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 56;
- j) CX или CC генотип для маркера ОНП_57 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 57 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 57;
- k) TX или TT генотип для маркера ОНП_58 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 58 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 58;
- l) TX или TT генотип для маркера ОНП_59 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 59 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 59;
- m) GX или GG генотип для маркера ОНП_60 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 60 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 60;
- n) AX или AA генотип для маркера ОНП_61 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 61 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 61;

о) АХ или АА генотип для маркера ОНП_62 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 62 или в эквивалентной позиции в последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 62.

2. Растение по п. 1, **отличающееся тем**, что растение содержит, по меньшей мере, фрагмент интрогрессии, содержащей ЛКП1.1 и ЛКП1.2.

3. Растение по п. 1, **отличающееся тем**, что растение содержит, по меньшей мере, фрагмент интрогрессии, содержащей ЛКП1.1 или ЛКП1.2 и ЛКП2.1.

4. Растение по любому из предшествующих пунктов, **отличающееся тем**, что фрагменты интрогрессии представлены в гомозиготной форме.

5. Растение по любому из предшествующих пунктов, **отличающееся тем**, что фрагмент интрогрессии, содержащий ЛКП, можно получить из NCIMB43745, PI605996, CGN22263, CGN22932 или PI197087.

6. Растение по любому из предшествующих пунктов, **отличающееся тем**, что ЛКП представляет собой ЛКП, который присутствует в семенах, депонированных под идентификационным номером NCIMB 43745.

7. Растение по любому из предшествующих пунктов, **отличающееся тем**, что указанный фрагмент интрогрессии может быть получен путем скрещивания растения, выращенного из семян, депонированных под номером доступа NCIMB 43745, с другим растением огурца.

8. Семена, из которых может быть выращено растение по любому из предшествующих пунктов.

9. Плод огурца, собранный с растения по любому из пп. 1 - 7.

10. Клетка, ткань растения или часть растения по любому из пп. 1 - 7.

11. Способ идентификации дикого огурца, содержащего ЛКП, придающий резистентность к ToLCNDV-ES, на хромосоме 1, 2 и/или 3, при этом указанный способ включает:

- А) получение дикого или примитивного образца огурца или нескольких образцов;
- В) скрининг указанного образца(-ов) с использованием анализа молекулярных маркеров, который позволяет обнаружить, по меньшей мере, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более ОНП-маркеров, связанных, по меньшей мере, с одним ЛКП, выбранным из числа ЛКП1.1, ЛКП1.2, ЛКП2.1 и/или ЛКП3.1;
- С) идентификацию и/или селекцию образца из b) содержащего гаплотип ОНП или генотип ОНП, по меньшей мере, из 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 маркеров ОНП, связанных с ЛКП, выбранных из:

Для ЛКП1.1:

- а) ТХ или ТТ генотип для маркера ОНП_01 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 1 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 1);
- б) ТХ или ТТ генотип для маркера ОНП_02 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 2 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 2);
- с) ТХ или ТТ генотип для маркера ОНП_03 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 3 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 3);
- д) ТХ или ТТ генотип для маркера ОНП_04 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 4 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 4);
- е) АХ или АА генотип для маркера ОНП_05 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 5 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 5);

- f) CX или CC генотип для маркера ОНП_06 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 6 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 6);
- g) TX или TT генотип для маркера ОНП_07 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 7 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 7);
- h) AX или AA генотип для маркера ОНП_08 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 8 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 8);
- i) GX или GG генотип для маркера ОНП_09 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 9 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 9); или AX или AA генотип для Однонуклеотидного Полиморфизма маркера ОНП_09 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 9 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 9);
- j) CX или CC генотип для маркера ОНП_10 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 10 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 10);
- k) CX или CC генотип для маркера ОНП_11 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 11 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 11);
- l) CX или CC генотип для маркера ОНП_12 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 12 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 12);

- m) TX или TT генотип для маркера ОНП_13 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 13 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 13);
- n) AX или AA генотип для маркера ОНП_14 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 14 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 14);
- o) CX или CC генотип для маркера ОНП_15 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 15 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 15); или TX или TT генотип для Однонуклеотидного Полиморфизма маркера ОНП_15 на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 15 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 15);
- p) GX или GG генотип для маркера ОНП_16 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 16 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 16).

Для ЛКП1.2:

- a) CX или CC генотип для маркера ОНП_17 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 17 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 17);
- b) GX или GG генотип для маркера ОНП_18 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 18 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 18);
- c) GX или GG генотип для маркера ОНП_19 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 19 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 19);

- d) TX или TT генотип для маркера ОНП_20 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 20 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 20);
- e) GX или GG генотип для маркера ОНП_21 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 21 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 21);
- f) GX или GG генотип для маркера ОНП_22 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 22 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 22);
- g) TX или TT генотип для маркера ОНП_23 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 23 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 23);
- h) CX или CC генотип для маркера ОНП_24 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 24 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 24);
- i) AX или AA генотип для маркера ОНП_25 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 25 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 25);
- j) CX или CC генотип для маркера ОНП_26 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 26 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 26);
- k) CX или CC генотип для маркера ОНП_27 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 27 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 27);

- l) CX или CC генотип для маркера ОНП_28 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 28 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 28);
- m) CX или CC генотип для маркера ОНП_29 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 29 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 29);
- n) AX или AA генотип для маркера ОНП_30 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 30 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 30);
- o) GX или GG генотип для маркера ОНП_31 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 31 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 31).

Для ЛКП2.1:

- a) TX или TT генотип для маркера ОНП_32 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 32 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 32);
- b) TX или TT генотип для маркера ОНП_33 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 33 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 33);
- c) CX или CC генотип для маркера ОНП_34 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 34 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 34);
- d) AX или AA генотип для маркера ОНП_35 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 35 (или на нуклеотиде 51

последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 35);

- e) TX или TT генотип для маркера ОНП_36 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 36 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 36);
- f) CX или CC генотип для маркера ОНП_37 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 37 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 37);
- g) GX или GG генотип для маркера ОНП_38 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 38 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 38);
- h) CX или CC генотип для маркера ОНП_39 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 39 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 39);
- i) GX или GG генотип для маркера ОНП_40 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 40 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 40);
- j) TX или TT генотип для маркера ОНП_41 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 41 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 41);
- k) AX или AA генотип для маркера ОНП_42 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 42 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 42);

- l) TX или TT генотип для маркера ОНП_43 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 43 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 43);
- m) TX или TT генотип для маркера ОНП_44 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 44 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 44);
- n) GX или GG генотип для маркера ОНП_45 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 45 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 45);
- o) AX или AA генотип для маркера ОНП_46 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 46 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 46);
- p) GX или GG генотип для маркера ОНП_47 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 47 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 47).

Для ЛКПЗ.1:

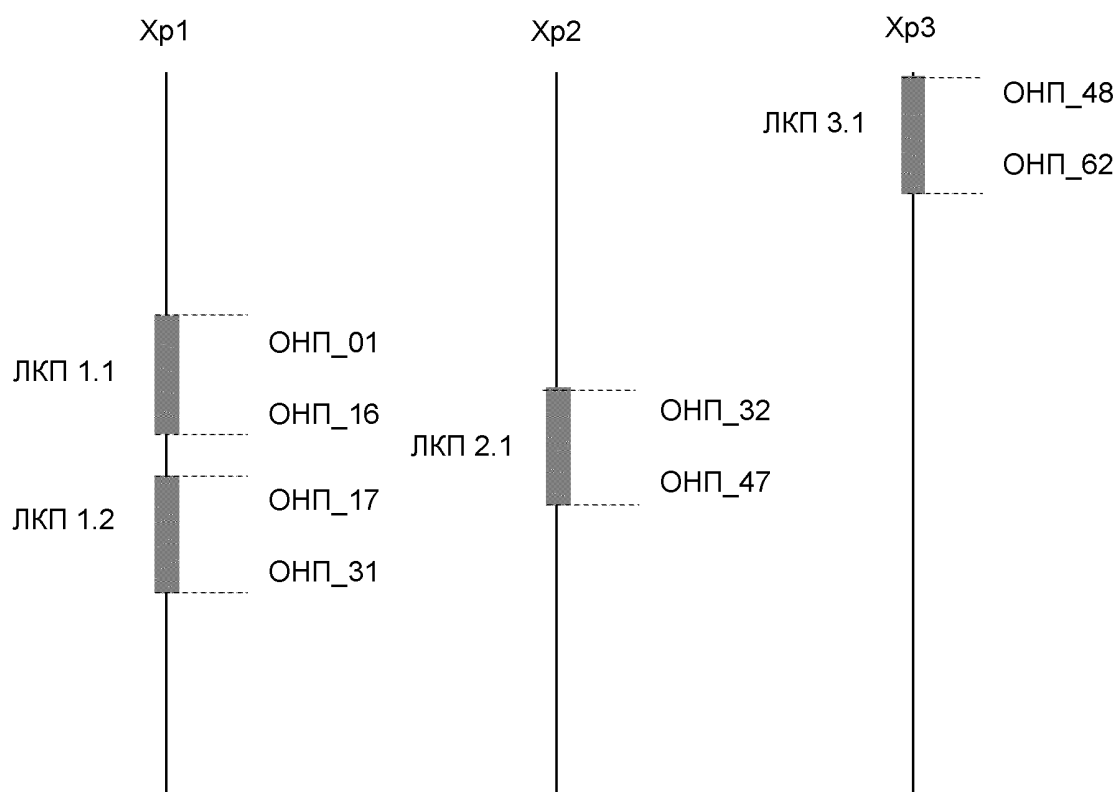
- a) AX или AA генотип для маркера ОНП_48 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 48 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 48);
- b) CX или CC генотип для маркера ОНП_49 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 49 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 49);
- c) CX или CC генотип для маркера ОНП_50 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 50 (или на нуклеотиде 51

последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 50);

- d) CX или CC генотип для маркера ОНП_51 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 51 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 51);
- e) TX или TT генотип для маркера ОНП_52 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 52 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 52);
- f) CX или CC генотип для маркера ОНП_53 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 53 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 53);
- g) CX или CC генотип для маркера ОНП_54 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 54 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 54);
- h) CX или CC генотип для маркера ОНП_55 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 55 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 55);
- i) GX или GG генотип для маркера ОНП_56 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 56 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 56);
- j) CX или CC генотип для маркера ОНП_57 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 57 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 57);

- k) TX или TT генотип для маркера ОНП_58 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 58 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 58);
- l) TX или TT генотип для маркера ОНП_59 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 59 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 59);
- m) GX или GG генотип для маркера ОНП_60 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 60 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 60);
- n) AX или AA генотип для маркера ОНП_61 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 61 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 61);
- o) AX или AA генотип для маркера ОНП_62 Однонуклеотидного Полиморфизма на нуклеотиде 51 SEQ ID NO: 62 (или на нуклеотиде 51 последовательности, содержащей, по меньшей мере, 95% идентичности последовательности с SEQ ID NO: 62).

Фигура 1



Фигура 2



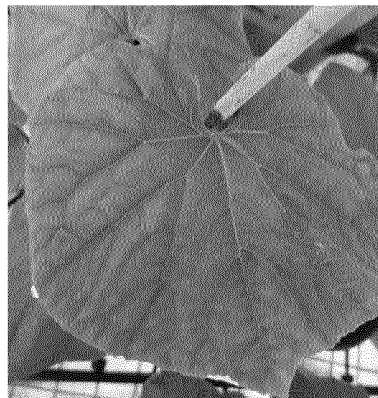
Показатель 2



Показатель 6



Показатель 3



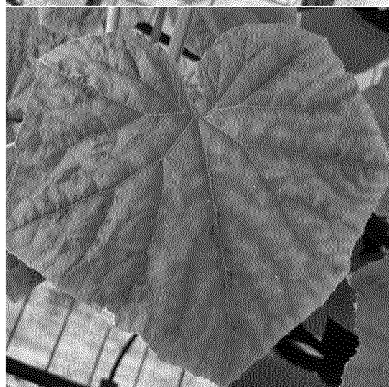
Показатель 7



Показатель 4

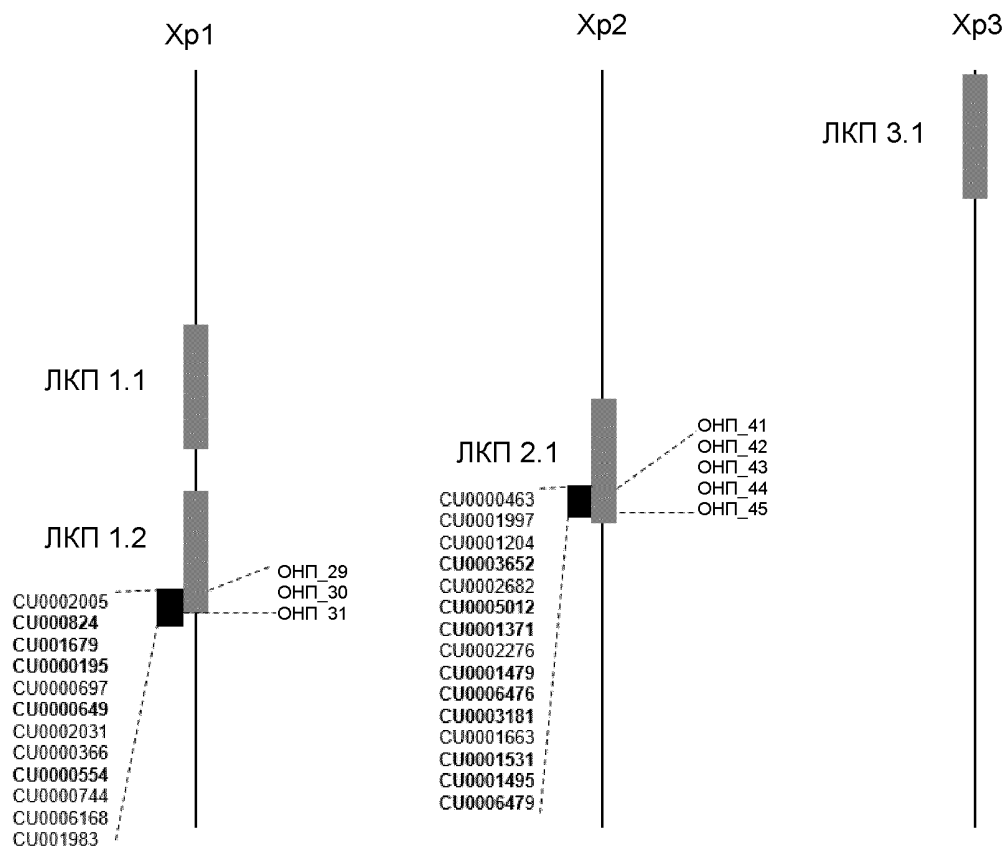


Показатель 9



Показатель 5

Фигура 3



Фигура 4

