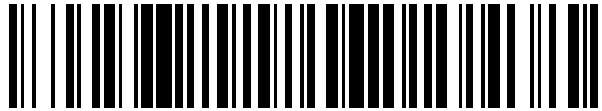


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 424 439**

51 Int. Cl.:

**C12Q 1/68** (2006.01)

**A01H 5/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.04.2008 E 08749952 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.05.2013 EP 2140023**

54 Título: **Planta resistente a los insectos**

30 Prioridad:

**02.05.2007 EP 07290556**

**30.10.2007 EP 07119649**

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

**02.10.2013**

73 Titular/es:

**SYNGENTA PARTICIPATIONS AG (100.0%)  
SCHWARZWALDALLEE 215  
4058 BASEL, CH**

72 Inventor/es:

**LINDERS, ENRICO GERARDUS ALBERTUS;  
NICOLET, JEAN LOUIS MARIE EDOUARD y  
VAN WIJK, HENRICUS JOHANNES**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

**ES 2 424 439 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

Planta resistente a los insectos

La presente invención se refiere a nuevos pimenteros resistentes a los insectos y a semillas y frutos de dichas plantas. La presente invención también se refiere a métodos para preparar y usar dichas plantas y sus frutos. La invención además se refiere a marcadores y el uso de los mismos en reproducción favorecida por marcadores y para identificar el rasgo de resistencia a los insectos.

Los pimientos son un cultivo importante en el mundo con un valor comercial estimado de aproximadamente 500 millones de dólares al año. Los pimientos son Solanaceas del género *Capsicum*, que incluye las especies *Capsicum annuum*, *Capsicum frutescens* y *Capsicum chinense*. Los pimientos comerciales son diploides con  $n = 12$  cromosomas. Los pimientos se cultivan y se usan en todo el mundo como pimientos tales como el pimiento o como guindillas picantes, jalapeños y pimientos TABASCO® o como una fuente de polvos secos de diversos colores tales como pimentón dulce. Los tipos de pimientos cultivados se pueden diferenciar por acritud, forma del fruto, color y tamaño (véase por ejemplo la Patente de EE.UU. 6.498.287).

Los frutos de la planta del pimiento, también referidos comúnmente como "pimientos", son muy perecederos. Son propensos a perder agua y secarse, que los hace poco atractivos para los consumidores. Los pimenteros son también huéspedes para una serie de enfermedades. Estas enfermedades reducen el rendimiento de los cultivos, pero también afectan al aspecto de los frutos, que los hace no comercializables. En particular, los insectos ocasionan daños sustanciales a los cultivos, dando como resultado sustanciales pérdidas comerciales. En algunos casos, los insectos afectan directamente a las plantas o los frutos, en otros casos actúan como un vector para los virus de las plantas. Normalmente el daño de los insectos reduce el crecimiento de la planta pero comúnmente no destruye la planta. Se puede usar el control químico y la rotación de cultivos para reducir el daño ocasionado por los insectos, pero estas estrategias son caras y a veces inoportunas.

Entre las plagas de insectos que afectan a los pimientos, la mosca blanca *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) y diversas especies de trips tales como el Trips Occidental de las Flores: *Frankliniella occidentalis*, el Trips de la Cebolla: *Thrips tabaci*, el Trips de Chile *Scirtothrips dorsalis* y el Trips del Melón *Thrips palmi* son en particular devastadores.

Hay aproximadamente 5.000 especies descritas de trips (insectos del Orden *Thysanoptera*). Las especies que se alimentan de plantas superiores se dan principalmente en la Familia *Thripidae*. Esta familia incluye las especies de plagas importantes incluyendo plagas graves de cultivos ornamentales, vegetales y frutales en el campo e invernadero. La alimentación y la puesta de huevos por los trips dan como resultado deformación, decoloración, plateado y bronceado de hojas y frutos de vegetales reduciendo su valor de mercado. Algunas especies de trips son vectores de bunyavirus (familia *Bunyaviridae*, género *Tospovirus*, especie tipo marchitamiento moteado del tomate). Anualmente tienen lugar epidemias graves sobre los alimentos, fibra y cultivos ornamentales en regiones tropicales y subtropicales en el mundo.

El Trips Occidental de las Flores (*Frankliniella occidentalis*) es una plaga de insectos oportunista en invernaderos que afecta gravemente a multitud de cultivos. La *Frankliniella occidentalis* se extendió casi mundialmente durante las dos últimas décadas. Esta especie de trips es muy dañina y difícil de controlar. Se multiplica fácilmente sobre el pimiento y crea daños físicos en la planta, las flores y los frutos desde la fase temprana en el vivero hasta el final del cultivo. Las larvas y los adultos se alimentan en las células epidérmicas de hojas, capullos, flores y frutos. Afectan a la piel del fruto y deprecian el valor comercial. Los cultivos de invernadero de alto valor tales como verduras son particularmente vulnerables a pérdidas económicas asociadas al daño por trips. El trips es también un vector eficaz de un virus devastador, el virus del Marchitamiento Moteado del Tomate (TSWV, por sus siglas en inglés) que crea grandes pérdidas a los productores. Las plantas infectadas presentan fuerte mosaico y necrosis en plantas y frutos.

El trips es difícil de controlar mediante productos químicos ya que el insecto ha desarrollado resistencia a varios insecticidas usados durante los últimos 15 años. En las condiciones del invernadero, el uso de predadores biológicos, con *Orius* en condiciones cálidas o *Amblyseius* en condiciones más frescas que mantienen un nivel bajo de trips en el cultivo, está ampliamente extendido pero no siempre es una práctica suficiente.

Para la mosca blanca, *Bemisia tabaci*, se han descrito al menos dos biotipos: el tipo B, idéntico a *Bemisia argentifolii* y el tipo Q.

El control de *Bemisia* y trips es difícil en particular, también debido al amplio intervalo de plantas huésped. Las especies *Bemisia* y trips atacan a una amplia variedad de cultivos de vegetales incluyendo: tomate, judías, pepinos, melones, melón amargo, capsicum, berenjena, calabaza, calabacita y calabacín. El *Capsicum* pertenece al cultivo más gravemente afectado.

Debido a los daños en planta y fruto y la transmisión de un virus devastador, hay una necesidad no satisfecha de estrategias convenientes y económicamente sostenibles para proteger los cultivos de pimiento de estas plagas. La resistencia de la planta huésped es una buena estrategia de control para *Bemisia* y trips. Es una alternativa compatible con el medio ambiente para el uso de pesticidas y puede aumentar la eficacia de las opciones de control

biológico y contribuir a programas de tratamiento de plagas integrados con éxito.

La presente invención estudia esta necesidad proporcionando pimenteros resistentes que sean menos atractivos para los insectos y/o capaces de resistir a la infestación y/o desarrollo de los insectos tal como, por ejemplo, puesta de huevos y/o desarrollo de crisálidas y estaría así protegido hasta un grado considerable de infestaciones de insectos, en particular de infestaciones de la mosca blanca *Bemisia tabaci*.

La presente invención proporciona una planta de *Capsicum annuum* cultivada que es resistente, en particular resistente de manera intermedia, a infestaciones por insectos de la familia *Thripidae* y/o el género *Bemisia*, pero especialmente a infestaciones por *Bemisia tabaci*.

La resistencia a infestaciones por *Bemisia* " o "planta resistente a *Bemisia* " se refiere a la capacidad de las plantas para resistir al ataque, infestación o colonización por el insecto. El nivel de resistencia presentada por una cierta planta se puede puntuar, por ejemplo, mediante un Ensayo de Resistencia a los Insectos normalizado, como se describe en el Ejemplo 2A en la presente memoria a continuación usando una escala de 1-9 para evaluar la importancia de la infestación.

En una realización, la invención proporciona una planta de *Capsicum annuum* cultivada que es resistente, en particular resistente de manera intermedia, a infestaciones por *Bemisia*, en la que dicha resistencia se puede evaluar en un ensayo de resistencia clásico, en particular un ensayo como se describe en el Ejemplo 2A a continuación, y en el que se obtiene una puntuación de la resistencia que no se desvía por más de 3 magnitudes, en particular por más de 2 magnitudes, pero especialmente por más de 1 magnitud de una puntuación que se puede obtener con una planta de *Capsicum annuum* de la estirpe 061M4387, simiente representativa de la que se deposita con el N° de Acceso NCIMB 41428, cuando se valora en el mismo ensayo en una extensión estadísticamente significativa y en condiciones ambientales idénticas, en particular bajo la misma presión de los insectos.

En una realización, se proporciona una planta de *Capsicum annuum* resistente a *Bemisia* capaz de resistir al desarrollo de insectos, en particular la puesta de huevos y/o el desarrollo de crisálidas en la planta de manera que el número de crisálidas en las hojas de la planta determinado en un ensayo de resistencia estándar, en particular un ensayo como se describe en el Ejemplo 2A a continuación, no se desvíe por más de un factor de 20, en particular por más de un factor de 15, más en particular por más de un factor de 10, incluso más en particular por más de un factor de 5, pero especialmente por más de un factor de 2, del número de crisálidas que se puede obtener con una planta de *Capsicum annuum* de la estirpe 061M4387, simiente representativa de la que se deposita con el N° de Acceso NCIMB 41428, cuando se valora en el mismo ensayo en una extensión estadísticamente significativa y en condiciones ambientales idénticas, en particular bajo la misma presión de los insectos.

En una realización se proporciona una planta de *Capsicum annuum* resistente a *Bemisia* capaz de resistir al desarrollo de insectos, en particular la puesta de huevos y/o el desarrollo de crisálidas en la planta en esencialmente la misma extensión que una planta *Capsicum annuum* de la estirpe 061M4387, simiente representativa de la que se deposita con el N° de Acceso NCIMB 41428, cuando se valora en el mismo ensayo en una extensión estadísticamente significativa y en condiciones ambientales idénticas, en particular bajo la misma presión de los insectos.

En una realización, se proporciona una planta de *Capsicum annuum* resistente a *Bemisia* capaz de resistir al desarrollo de insectos, en particular la puesta de huevos y/o el desarrollo de crisálidas en la planta, en la que dicha resistencia se puede evaluar en un ensayo de resistencia estándar, en particular un ensayo como es describe en el Ejemplo 2A a continuación y en la que se obtiene una puntuación de la resistencia que es al menos 2 magnitudes, en particular 3 magnitudes, más en particular al menos 4 magnitudes, pero especialmente al menos 5 magnitudes mayor que la puntuación de la resistencia obtenida con una variedad comercial susceptible estándar, tal como, por ejemplo, Vergasa o Bikingo, cuando se valora en el mismo ensayo en una extensión estadísticamente significativa y en condiciones ambientales idénticas, en particular bajo la misma presión de los insectos.

En una realización, se proporciona una planta de *Capsicum annuum* cultivada, que es resistente, en particular resistente de manera intermedia a *Bemisia*, especialmente a infestaciones con *Bemisia tabaci*, en particular evitando la puesta de huevos y/o el desarrollo de crisálidas de *Bemisia* en las células epiteliales de las hojas, capullos, flores y frutos de la planta de *Capsicum annuum*, respectivamente, en esencialmente la misma extensión que una planta de *Capsicum annuum* de la estirpe 061M4387, simiente representativa de la que se deposita con el N° de Acceso NCIMB 41428, cuando se valora en el mismo ensayo en una extensión estadísticamente significativa y en condiciones ambientales idénticas, en particular bajo la misma presión de los insectos.

En una realización, la presente invención proporciona una planta de *Capsicum annuum* cultivada que es resistente, en particular resistente de manera intermedia, a infestaciones por *Bemisia*, en la que dicha planta contiene un genoma que comprende al menos un locus de rasgos cuantitativos ("QTL, por sus siglas en inglés") que contribuye a resistencia a *Bemisia*, en particular una planta de *Capsicum annuum* cultivada que es resistente, en particular resistente de manera intermedia, a infestaciones por *Bemisia*, en la que dicha planta contiene un genoma que comprende un locus de rasgos cuantitativos ("QTL") que contribuye a la resistencia a *Bemisia*, en la que dicho QTL está situado en el cromosoma 3 y/o cromosoma 5.

En una realización, la presente invención proporciona una planta de *Capsicum annuum* cultivada que es resistente, en particular resistente de manera intermedia, a infestaciones por *Bemisia*, en la que dicha planta contiene un genoma que comprende al menos dos locus de rasgos cuantitativos ("QTL") que contribuyen a la resistencia a *Bemisia*, en la que un primer QTL está situado en el cromosoma 3 y un segundo QTL está situado en el cromosoma 5.

El QTL en el cromosoma 5 es un solo QTL que contribuye a la resistencia tanto a *Bemisia* como a trips.

En una realización, dicho QTL se puede obtener de una planta que tiene los antecedentes genéticos de la estirpe 061M4387, en particular de una planta que tiene los antecedentes genéticos o la arquitectura genética en el QTL de la estirpe 061M4387, pero especialmente de una planta de la estirpe 061M4387, simiente representativa de la que se deposita en NCIMB con el N° de Acceso NCIMB 41428 o de una progenie o un ascendiente de la misma que comprende dicho QTL.

En una realización más, la invención se refiere a una planta de *Capsicum annuum* cultivada según la invención y como se describió en la presente memoria antes, planta que contiene un genoma que comprende al menos un locus de rasgos cuantitativos ("QTL") que contribuye a la resistencia a *Bemisia*, en la que dicho QTL se caracteriza por que está ligado de manera genética a al menos un locus marcador, en particular a al menos dos locus marcadores, más en particular a al menos tres locus marcadores e incluso más en particular a al menos cuatro locus marcadores, pero especialmente a al menos cinco y hasta seis locus marcadores, locus marcadores que están en el cromosoma 3 y son co-segregados con el rasgo de resistencia a *Bemisia* y se pueden identificar por un par de cebadores oligonucleótidos PCR seleccionados del grupo de par de cebadores 1 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 1 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 2, que identifican el locus marcador 1; par de cebadores 2 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 3 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 4, que identifican el locus marcador 2; par de cebadores 3 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 5 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 6, que identifican el locus marcador 3; par de cebadores 4 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 7 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 8, que identifican el locus marcador 4; par de cebadores 5 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 9 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 10, que identifican el locus marcador 5 y par de cebadores 6 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 11 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 12, que identifican el locus marcador 6.

En una realización, la invención se refiere a una planta de *Capsicum annuum* cultivada que contiene un genoma que comprende al menos un locus de rasgos cuantitativos ("QTL") que contribuye a la resistencia a *Bemisia*, en la que dicho QTL se puede obtener de una planta donadora que tiene los antecedentes genéticos de la estirpe 061M4387, en particular de una planta que tiene los antecedentes genéticos o la arquitectura genética en el QTL de la estirpe 061M4387, pero especialmente de una planta de la estirpe 061M4387, simiente representativa de la que se deposita en NCIMB con el N° de Acceso NCIMB 41428, o de una progenie o un ascendiente de la misma que comprende dicho QTL, QTL que en la planta donadora está unida genéticamente a al menos un locus marcador, en particular a al menos dos locus marcadores, en particular a al menos tres locus marcadores y en particular a al menos cuatro locus marcadores, en particular a al menos cinco locus marcadores, en particular a al menos seis locus marcadores y hasta siete locus marcadores, locus marcadores que están en el cromosoma 3 y se co-segregan con el rasgo de resistencia a *Bemisia* y se pueden identificar por un par de cebadores oligonucleótidos PCR seleccionados del grupo de pares de cebadores 1 a 6 como se proporciona en las SEC ID Nos. 1 a 12.

En una realización, la invención se refiere a una planta de *Capsicum annuum* cultivada según la invención y como se describió en la presente memoria anteriormente, planta que contiene un genoma que comprende un locus de rasgos cuantitativos ("QTL") que contribuye a la resistencia a *Bemisia*, en el que dicho QTL se caracteriza por que está unido genéticamente a al menos un locus marcador, en particular a al menos dos locus marcadores, en particular a al menos tres locus marcadores y en particular a al menos cuatro locus marcadores, en particular a al menos cinco locus marcadores, en particular a al menos seis locus marcadores y hasta siete locus marcadores, locus marcadores que están en el cromosoma 5 y se co-segregan con el rasgo de resistencia a *Bemisia* y se pueden identificar por un par de cebadores oligonucleótidos PCR seleccionados del grupo de par de cebadores 7 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 13 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 14, que identifican el locus marcador 7, par de cebadores 8 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 15 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 16, que identifican el locus marcador 8; par de cebadores 9 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 17 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 18, que identifican el locus marcador 9; par de cebadores 10 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 19 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 20, que identifican el locus marcador 10; par de cebadores 11 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 21 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 22, que identifican el locus marcador 11; par de cebadores 12 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 23 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 24, que identifican el locus marcador 12 y par de cebadores 13 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 25 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 26, que identifican el locus marcador 13 o por cualquier otro locus marcador que esté correlacionado de manera estadística con el rasgo de resistencia a *Bemisia*.

En una realización, la invención se refiere a una planta de *Capsicum annuum* cultivada que contiene un genoma que

comprende al menos un locus de rasgos cuantitativos ("QTL") que contribuye a la resistencia a *Bemisia*, en el que dicho QTL se puede obtener de una planta donadora con los antecedentes genéticos de la estirpe 061M4387, en particular de una planta con los antecedentes genéticos o la arquitectura genética en el QTL de la estirpe 061M4387, pero especialmente de una planta de la estirpe 061M4387, simiente representativa de la que se deposita en NCIMB con el N° de Acceso NCIMB 41428 o de una progenie o un ascendiente de la misma que comprende dicho QTL, QTL que en la planta donadora está unido genéticamente a al menos un locus marcador, en particular dos locus marcadores, en particular a al menos tres locus marcadores y en particular a al menos cuatro locus marcadores, en particular a al menos cinco locus marcadores, en particular a al menos seis locus marcadores y hasta siete locus marcadores, locus marcadores que están en el cromosoma 5 y se co-segregan con el rasgo de resistencia a *Bemisia* y se pueden identificar por un par de cebadores oligonucleótidos PCR seleccionados del grupo de pares de cebadores 7 a 13 como se proporciona en las SEC ID Nos. 13 a 26.

En una realización más, la invención se refiere a una planta de *Capsicum annuum* cultivada según la invención y como se describió en la presente memoria anteriormente, planta que contiene un genoma que comprende al menos dos locus de rasgos cuantitativos ("QTL") que contribuyen a la resistencia a *Bemisia*, en el que:

a) un primer QTL se caracteriza por que está unido genéticamente a al menos un locus marcador, en particular a al menos dos locus marcadores, más en particular a al menos tres locus marcadores e incluso más en particular a al menos cuatro locus marcadores, pero especialmente a al menos cinco y hasta seis locus marcadores, locus marcadores que están en el cromosoma 3 y se co-segregan con el rasgo de resistencia a *Bemisia* y se pueden identificar por un par de cebadores oligonucleótidos PCR seleccionados del grupo de par de cebadores 1 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 1 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 2, que identifican el locus marcador 1, par de cebadores 2 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 3 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 4, que identifican el locus marcador 2; par de cebadores 3 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 5 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 6, que identifican el locus marcador 3; par de cebadores 4 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 7 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 8, que identifican locus marcador 4, par de cebadores 5 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 9 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 10, que identifican el locus marcador 5 y par de cebadores 6 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 11 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 12, que identifican el locus marcador 6 y

b) un segundo QTL se caracteriza por que está unido genéticamente a al menos un locus marcador, en particular a al menos dos locus marcadores, en particular a al menos tres locus marcadores y en particular a al menos cuatro locus marcadores, en particular a al menos cinco locus marcadores, en particular a al menos seis locus marcadores y hasta siete locus marcadores, locus marcadores que están en el cromosoma 5 y se co-segregan con el rasgo de resistencia a *Bemisia* y se pueden identificar por un par de cebadores oligonucleótidos PCR seleccionados del grupo de par de cebadores 7 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 13 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 14, que identifican el locus marcador 7, par de cebadores 8 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 15 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 16, que identifican el locus marcador 8; par de cebadores 9 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 17 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 18, que identifican el locus marcador 9; par de cebadores 10 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 19 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 20, que identifican el locus marcador 10; par de cebadores 11 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 21 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 22, que identifican el locus marcador 11; par de cebadores 12 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 23 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 24, que identifican el locus marcador 12 y par de cebadores 13 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 25 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 26, que identifican el locus marcador 13.

En una realización, la invención se refiere a una planta de *Capsicum annuum* cultivada que contiene un genoma que comprende al menos dos locus de rasgos cuantitativos ("QTL") que contribuyen a la resistencia a *Bemisia*, en el que dicho QTL se puede obtener de una planta donadora con los antecedentes genéticos de la estirpe 061M4387, en particular de una planta que tiene los antecedentes genéticos o la arquitectura genética en el QTL de la estirpe 061M4387, pero especialmente de una planta de la estirpe 061M4387, simiente representativa de la que se deposita en NCIMB con el N° de Acceso NCIMB 41428 o de una progenie o un ascendiente de la misma que comprende dicho QTL, cuyo primer QTL está situado en el cromosoma 3 en la planta donadora y unido genéticamente a al menos un locus marcador, en particular a al menos dos locus marcadores, en particular a al menos tres locus marcadores y en particular a al menos cuatro locus marcadores, en particular a al menos cinco locus marcadores, en particular a al menos seis locus marcadores, locus marcadores que están en el cromosoma 3 y se co-segregan con el rasgo de resistencia a *Bemisia* y se pueden identificar por un par de cebadores oligonucleótidos PCR 1 a 6 como se proporciona en las SEC ID Nos. 1 a 12 y cuyo segundo QTL está situado en el cromosoma 5 en la planta donadora y unido genéticamente a al menos un locus marcador, en particular a al menos dos locus marcadores, en particular a al menos tres locus marcadores y en particular a al menos cuatro locus marcadores, en particular a al menos cinco locus marcadores, en particular a al menos seis locus marcadores y hasta siete locus marcadores, locus marcadores que están en el cromosoma 5 y se co-segregan con el rasgo de resistencia a *Bemisia* y se pueden identificar por un par de cebadores oligonucleótidos PCR seleccionados del grupo de pares de cebadores 7 a 13, como se proporciona en las SEC ID Nos. 13 a 26.

En una realización de la invención, se puede establecer uno o más cebadores o sondas, en particular uno o más pares de cebadores, pero especialmente uno o más pares de cebadores que consisten en un cebador en sentido directo y un cebador de sentido inverso, para identificar los locus marcadores según la invención usando dicho uno o más cebadores o sondas o dicho uno o más pares de cebadores, en particular por asociación de los cebadores de sentido directo y de sentido inverso de las SEQ ID Nos. 1-12 para dar como resultado un par de cebadores que permita identificar uno o más de los locus marcadores en el cromosoma 3, que se co-segregan con el rasgo de resistencia a *Bemisia*.

En una realización de la invención, se puede establecer uno o más cebadores o sondas, en particular uno o más pares de cebadores, pero especialmente uno o más pares de cebadores que consisten en un cebador en sentido directo y un cebador de sentido inverso, para identificar los locus marcadores según la invención usando dicho uno o más cebadores o sondas o dicho uno o más pares de cebadores, en particular por asociación de los cebadores de sentido directo y de sentido inverso de las SEC ID Nos. 13-26 para dar como resultado un par de cebadores que permita identificar a uno o más de los locus marcadores en el cromosoma 5, que se co-segregan con el rasgo de resistencia a *Bemisia*.

En una realización de la invención se incluyen cebadores oligonucleótidos, en particular pares de cebadores, pero especialmente pares de cebadores que consisten en un cebador de sentido directo y uno de sentido inverso que presentan una secuencia de nucleótidos que se hibrida a las secuencias de nucleótidos de las secuencias de cebadores de sentido directo y de sentido inverso proporcionadas en las SEC ID Nos. 1-12 mostradas en la Tabla 10 y a las secuencias de nucleótidos de las secuencias de cebadores de sentido directo y de sentido inverso proporcionadas en las SEC ID Nos. 13-26 mostradas en la Tabla 11, respectivamente, en condiciones de rigurosidad media, en particular media a alta, en particular alta.

En una realización, la invención se refiere a secuencias de oligonucleótidos, en particular a secuencias de oligonucleótidos que se pueden usar como cebadores y/o sondas, en particular a pares de cebadores, pero especialmente a pares de cebadores que consisten en un cebador de sentido directo y uno de sentido inverso que presentan una secuencia de nucleótidos que se hibrida a secuencias de nucleótidos que se pueden obtener usando un cebador de sentido directo y uno de sentido inverso que presenta una secuencia de nucleótidos que se hibrida a las secuencias de nucleótidos de las secuencias de cebador de sentido directo y de sentido inverso proporcionadas en las SEC ID Nos. 1-12 mostradas en la Tabla 10 y a las secuencias de nucleótidos de las secuencias de cebador de sentido directo y de sentido inverso proporcionadas en las SEC ID Nos. 13-26 mostradas en la Tabla 11, respectivamente, en condiciones de rigurosidad media, en particular media a alta, en particular alta.

En otra realización de la invención, se proporciona una planta de *Capsicum annuum* cultivada como se describió en la presente memoria anteriormente, en la que dicha planta comprende un locus de rasgos cuantitativos ("QTL") asociado a la resistencia a *Bemisia*, QTL que se caracteriza por que está unido genéticamente a al menos un locus marcador, en particular un locus marcador en el cromosoma 3 y en el que dicho QTL se define además por al menos un alelo marcador en al menos dicho locus marcador unido al QTL, alelo marcador que se caracteriza por el producto de multiplicación por PCR de un cebador o par de cebadores oligonucleótidos seleccionados del grupo de pares de cebadores 1-6 representados por los cebadores de sentido directo y de sentido inverso de las SEC ID Nos. 1-12, incluyendo pares de cebadores que resultan de una asociación de los cebadores de sentido directo y de sentido inverso de las SEC ID Nos. 1-12, producto de multiplicación que corresponde a un producto de multiplicación que se puede obtener de la estirpe endogámica 061M4387 (NCIMB 41428) en una reacción PCR con cebadores idénticos que se pueden obtener de dichos pares de cebadores 1-6 siempre que el locus marcador respectivo aún esté presente en dicha planta de *Capsicum*.

En particular, la planta de *Capsicum annuum* cultivada como se describió en la presente memoria anteriormente comprende un locus de rasgos cuantitativos ("QTL") asociado a la resistencia a *Bemisia*, QTL que se caracteriza por que está unido genéticamente a al menos un locus marcador, en particular un locus marcador en el cromosoma 3 y en el que dicho QTL se define además por al menos un alelo marcador en al menos dicho locus marcador unido al QTL, alelo marcador que se caracteriza por el producto de multiplicación por PCR de un par de cebadores oligonucleótidos seleccionados del grupo de par de cebadores 1 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 1 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 2, que identifican el locus marcador 1, par de cebadores 2 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 3 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 4, que identifican el locus marcador 2; par de cebadores 3 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 5 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 6, que identifican el locus marcador 3; par de cebadores 4 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 7 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 8, que identifican el locus marcador 4; par de cebadores 5 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 9 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 10, que identifican el locus marcador 5 y par de cebadores 6 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 11 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 12, que identifican el locus marcador 6, producto de multiplicación que corresponde a un producto de multiplicación que se puede obtener de la estirpe endogámica 061M4387 (NCIMB 41428) en una reacción PCR con los pares de cebadores 1-6 identificados anteriormente siempre que aún esté presente el respectivo locus marcador en dicha planta de *Capsicum* y/o se pueda considerar un alelo del mismo.

En otra realización de la invención, se proporciona una planta de *Capsicum annuum* cultivada como se describió en

la presente memoria anteriormente, en la que dicha planta comprende un locus de rasgos cuantitativos ("QTL") asociado a la resistencia a *Bemisia*, QTL que se caracteriza por que está unido genéticamente a al menos un locus marcador, en particular un locus marcador en el cromosoma 5 y en la que dicho QTL se define además por al menos un alelo marcador en al menos dicho locus marcador unido al QTL, alelo marcador que se caracteriza por el producto de multiplicación por PCR de un cebador o par de cebadores oligonucleótidos seleccionados del grupo de pares de cebadores 7-13 representados por los cebadores de sentido directo y de sentido inverso de las SEC ID Nos.13-26, incluyendo los pares de cebadores que resultan de una asociación de los cebadores de sentido directo y de sentido inverso de las SEC ID Nos. 13-26, producto de multiplicación que corresponde a un producto de multiplicación que se puede obtener de la estirpe endogámica 061M4387 (NCIMB 41428) en una reacción PCR con cebadores idénticos que se pueden obtener de los pares de cebadores 7-13 identificados anteriormente siempre que el respectivo locus marcador aún esté presente en dicha planta de *Capsicum* y/o se pueda considerar un alelo del mismo.

En particular, la planta de *Capsicum annuum* cultivada como se describió en la presente memoria anteriormente comprende un locus de rasgos cuantitativos ("QTL") asociado a la resistencia a *Bemisia*, QTL que se caracteriza por que está unido genéticamente a al menos un locus marcador, en particular un locus marcador en el cromosoma 5 y en la que dicho QTL se define además por al menos un alelo marcador en al menos dicho locus marcador unido al QTL, alelo marcador que se caracteriza por el producto de multiplicación por PCR de un par de cebadores oligonucleótidos seleccionado del grupo de par de cebadores 7 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 13 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 14, que identifican el locus marcador 7; par de cebadores 8 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 15 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 16, que identifican el locus marcador 8; par de cebadores 9 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 17 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 18, que identifican el locus marcador 9; par de cebadores 10 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 19 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 20, que identifican el locus marcador 10; par de cebadores 11 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 21 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 22, que identifican locus marcador 11; par de cebadores 12 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 23 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 24, que identifican el locus marcador 12 y par de cebadores 13 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 25 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 26, que identifican el locus marcador 13, producto de multiplicación que corresponde a un producto de multiplicación que se puede obtener de la estirpe endogámica 061M4387 (NCIMB 41428) en una reacción PCR con cebadores idénticos que se pueden obtener de los pares de cebadores 7-13 identificados anteriormente siempre que el respectivo locus marcador aún esté presente en dicha planta de *Capsicum* y/o se pueda considerar un alelo del mismo.

En particular, la planta de *Capsicum annuum* cultivada como se describió en la presente memoria anteriormente comprende un locus de rasgos cuantitativos ("QTL") asociado

a) con resistencia a *Bemisia*, QTL que se caracteriza por que está unido genéticamente a al menos un locus marcador, en particular un locus marcador en el cromosoma 3 y en la que dicho QTL se define además por al menos un alelo marcador a al menos dicho locus marcador unido al QTL, alelo marcador que se caracteriza por el producto de multiplicación por PCR de un par de cebadores oligonucleótidos seleccionado del grupo de par de cebadores 1 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 1 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 2, que identifican el locus marcador 1; par de cebadores 2 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 3 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 4, que identifican el locus marcador 2; par de cebadores 3 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 5 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 6, que identifican el locus marcador 3; par de cebadores 4 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 7 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 8, que identifican el locus marcador 4; par de cebadores 5 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 9 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID. N° 10, que identifican el locus marcador 5 y par de cebadores 6 representado por un cebador de sentido directo de la SEC ID N° 11 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 12, que identifican el locus marcador 6 y

b) con resistencia a *Bemisia*, QTL que se caracteriza por que está unido genéticamente a al menos un locus marcador, en particular un locus marcador en el cromosoma 5 y en la que dicho QTL se define además por al menos un alelo marcador en al menos dicho locus marcador unido al QTL, alelo marcador que se caracteriza por el producto de multiplicación PCR de un par de cebadores oligonucleótidos seleccionado del grupo de par de cebadores 7 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 13 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 14, que identifican el locus marcador 7; par de cebadores 8 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 15 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 16, que identifican el locus marcador 8; par de cebadores 9 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 17 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 18, que identifican el locus marcador 9; par de cebadores 10 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 19 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 20, que identifican el locus marcador 10; par de cebadores 11 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 21 y un cebador de sentido inverso de la SEC ID N° 22, que identifican el locus marcador 11; par de cebadores 12 representado por un cebador de sentido directo de la SEC ID N° 23 y un cebador de sentido inverso de la SEC ID N° 24, que identifican el locus marcador 12 y par de cebadores 13 representado por un cebador de sentido directo de la SEC ID N° 25 y un cebador de sentido inverso de la SEC ID N° 26, que identifican el locus marcador 13,

- 5 en la que cada producto de multiplicación corresponde a un producto de multiplicación que se puede obtener de la estirpe endogámica 061M4387 (NCIMB 41428) en una reacción PCR con cebadores idénticos que se pueden obtener de los pares de cebadores 1-6 y 7-13, respectivamente, identificados anteriormente siempre que el respectivo locus marcador aún esté presente en dicha planta de *Capsicum* y/o se pueda considerar un alelo del mismo.
- 10 En una realización de la invención, se proporciona una planta de *Capsicum annuum* cultivada según la invención y como se describió en la presente memoria anteriormente, en la que dicho alelo o alelos asociados a la resistencia a *Bemisia* se pueden obtener de la estirpe 061M4387 o cualquier otra estirpe con la misma arquitectura genética en el QTL en el cromosoma 3 y/o cromosoma 5, simiente representativa de la que se deposita en el N° de Acceso NCIMB 41428 o de una progenie o un ascendiente de la misma que comprende dicho QTL o arquitectura del QTL.
- En un aspecto de la invención, la planta de *Capsicum annuum* cultivada según la invención y como se describió en la presente memoria anteriormente es heterocigoto para el rasgo de resistencia a *Bemisia*.
- 15 En un aspecto de la invención, la planta de *Capsicum annuum* cultivada según la invención y como se describió en la presente memoria anteriormente es homocigoto para el rasgo de resistencia a *Bemisia*.
- En otro aspecto más de la invención, la planta según la invención y como se describió en la presente memoria anteriormente soporta fruto, que, en la madurez, pesa más de 2 gramos o son mayores de 1 cm y tienen un diámetro de más de 0,5 cm y no muestran daño de alimentación causado por *Bemisia*, cuando se cultiva dicha planta en condiciones de cultivo usadas en general por los productores en la práctica regular de cultivo, en campo abierto o en invernadero.
- 20 La planta según la invención y como se describió en la presente memoria anteriormente puede ser un pimentero, un pimiento, un pimiento rectangular grande, un pimiento cónico, un pimiento cónico largo o un pimiento de tipo bloque. El fruto de dicha planta puede ser una planta de hoja perenne, un fruto amarillo, naranja, marfil o rojo.
- 25 La planta según la invención puede ser una planta de guindilla, por ej., un pimiento ligeramente picante usado para el mercado de productos frescos y para tratamiento incluyendo el pimiento de tipo Ancho de carne delgada, de forma de corazón, largo y el pimiento de tipo Toscano de carne delgada, de punta roma, largo, el fruto chile ligeramente más picante con grosor de la carne medio y un pimiento picante usado tanto en mercado de productos frescos como para tratamiento incluyendo el Jalapeño de carne gruesa cilíndrico, largo, el Serrano estrechado, fino, pequeño y la pimienta Cayena de carne delgada, de forma irregular.
- 30 La planta según la invención y como se describió en la presente memoria anteriormente puede ser una endogámica, una dihaploide o una híbrida y/o una macho-estéril.
- 35 En una realización, la invención se refiere a material de la planta que se puede obtener de una planta según la invención y como se describió en la presente memoria anteriormente incluyendo, pero sin limitarse a la misma, hojas, tallos, raíces, flores o partes de flores, frutos, polen, células huevo, cigotos, semillas, esquejes, cultivos de células o tejidos o cualquier otra parte o producto de la planta que aún presente el fenotipo resistente según la invención, en particular cuando se cultiva en una planta.
- 40 La invención se refiere además a partes de la planta que se pueden obtener de una planta según la invención y como se describió en la presente memoria anteriormente incluyendo, pero sin limitarse a la misma, semillas de plantas, órganos de plantas tales como, por ejemplo, una raíz, tallo, hoja, capullo de flor o embrión etc., óvulos, micrósporas de polen, células de plantas, tejido de plantas, cultivos de células de plantas tales como, por ejemplo, protoplastos, células de cultivo celular, células en tejidos de plantas, polen, tubos de polen, óvulos, sacos embrionarios, cigotos y embriones en diversas fases de desarrollo, etc., que aún presentan el fenotipo resistente según la invención, en particular cuando se cultivan en una planta.
- 45 En un aspecto, la invención se refiere al uso de QTL que se puede obtener de una planta que tiene el antecedente genético, pero en particular la arquitectura genética en el locus de resistencia a *Bemisia*, de la estirpe 061M4387, simiente representativa de la que se deposita en el N° de Acceso NCIMB 41428 o una progenie o un ascendiente de la misma, en particular de una planta que tiene la arquitectura genética en el QTL que contribuye a la resistencia a *Bemisia* de la estirpe 061M4387 o una progenie o un ascendiente de la misma, pero especialmente de dicha estirpe 061M4387 o una progenie o un ascendiente de la misma, para conferir resistencia a *Bemisia* en una planta de *Capsicum annuum* que carece de dicho alelo asociado a la resistencia a *Bemisia*.
- 50 En un aspecto, la invención se refiere a un método para producir el fruto pimiento que comprende:
- a) cultivar una planta de *Capsicum annuum* cultivada resistente, en particular resistente de manera intermedia, a *Bemisia* según la invención y como se describió en la presente memoria anteriormente;
  - b) permitir que dicha planta de fruto y
  - c) recoger fruto de dicha planta.



En otro aspecto, la invención se refiere a un método para producir simiente de pimiento que comprende:

a) cultivar planta de *Capsicum annuum* cultivada resistente, en particular resistente de manera intermedia, a *Bemisia* según la invención y como se describió en la presente memoria anteriormente;

b) recoger fruto de dicha planta y

5 c) extraer simiente de dicho fruto.

En una realización, la invención se refiere a un método para identificar un locus de rasgos cuantitativos ("QTL") que contribuye a la resistencia a *Bemisia* que comprende usar en una reacción PCR un cebador oligonucleótido PCR o un par de cebadores oligonucleótidos PCR seleccionados del grupo del par de cebadores 1 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 1 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 2, que identifican el locus marcador 1; par de cebadores 2 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 3 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 4, que identifican el locus marcador 2; par de cebadores 3 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 5 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 6, que identifican el locus marcador 3; par de cebadores 4 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 7 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 8, que identifican el locus marcador 4; par de cebadores 5 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 9 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 10, que identifican el locus marcador 5 y par de cebadores 6 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 11 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 12, que identifican el locus marcador 6.

En una realización, la invención se refiere a un método para identificar un locus de rasgos cuantitativos ("QTL") que contribuye a la resistencia a *Bemisia* que comprende usar en una reacción PCR un cebador oligonucleótido PCR o un par de cebadores oligonucleótidos PCR seleccionados del grupo de par de cebadores 7 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 13 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 14, que identifican el locus marcador 7; par de cebadores 8 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 15 y un cebador de sentido inverso de la SEC ID N° 16, que identifican el locus marcador 8; par de cebadores 9 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 17 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 18, que identifican el locus marcador 9; par de cebadores 10 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 19 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 20, que identifican el locus marcador 10; par de cebadores 11 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 21 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 22, que identifican el locus marcador 11; par de cebadores 12 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 23 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 24, que identifican el locus marcador 12 y par de cebadores 13 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 25 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 26, que identifican el locus marcador 13.

En una realización, la invención se refiere a un método para identificar un locus de rasgos cuantitativos ("QTL") que contribuye a la resistencia a *Bemisia* que comprende usar en una reacción PCR:

a) un cebador oligonucleótido PCR o un par de cebadores oligonucleótidos PCR seleccionado del grupo de par de cebadores 1 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 1 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 2, que identifican el locus marcador 1; par de cebadores 2 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 3 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 4, que identifican el locus marcador 2; par de cebadores 3 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 5 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 6, que identifican el locus marcador 3; par de cebadores 4 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 7 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 8, que identifican el locus marcador 4; par de cebadores 5 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 9 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 10, que identifican el locus marcador 5 y par de cebadores 6 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 11 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 12, que identifican el locus marcador 6 y

b) un cebador oligonucleótido PCR o un par de cebadores oligonucleótidos PCR seleccionado del grupo de par de cebadores 7 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 13 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 14, que identifican el locus marcador 7; par de cebadores 8 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 15 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 16, que identifican el locus marcador 8; par de cebadores 9 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 17 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 18, que identifican el locus marcador 9; par de cebadores 10 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 19 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 20, que identifican el locus marcador 10; par de cebadores 11 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 21 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 22, que identifican el locus marcador 11; par de cebadores 12 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 23 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 24, que identifican el locus marcador 12 y par de cebadores 13 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 25 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 26, que identifican el locus marcador 13.

En una realización, la invención proporciona una planta de *Capsicum annuum* cultivada que comprende un genoma que comprende al menos un QTL que contribuye a la resistencia a *Bemisia*, QTL que está situado en el cromosoma

3, en la que al menos dicho QTL se puede identificar por un marcador molecular que está en desequilibrio de unión y/o unido a y/o situado en la región QTL, así como un marcador que representa las mutaciones causales reales subyacentes al QTL y así presenta correlación estadística con el rasgo fenotípico, marcador que se puede desarrollar usando los cebadores oligonucleótidos como se desvela en la SEC ID N° 1-12.

- 5 En una realización, la invención proporciona una planta de *Capsicum annuum* cultivada que comprende un genoma que comprende al menos dos QTL que contribuyen a la resistencia a *Bemisia*, QTL que se sitúa en el cromosoma 3 y 5, en la que al menos dichos dos QTL se pueden identificar por marcadores moleculares que están en desequilibrio de unión y/o unidos a y/o situados en la región QTL, así como a marcadores que representan las mutaciones causales reales subyacentes al QTL y así presenta correlación estadística con el rasgo fenotípico, marcadores que se pueden desarrollar usando los cebadores oligonucleótidos como se desvela en la SEC ID N° 1-12 y las SEC ID Nos. 13 a 26, respectivamente.

#### Definiciones

15 Los términos y las expresiones técnicas usadas dentro del alcance de esta solicitud proporcionan en general el significado que se les aplica comúnmente en la técnica pertinente de la reproducción y cultivo de plantas si no se indica de otro modo en la presente memoria a continuación.

Se entiende que una planta de "*Capsicum annuum* cultivada" dentro del alcance de la invención se refiere a una planta que ya no está en el estado natural pero se ha desarrollado por cuidado humano y para uso y/o consumo humano.

20 Como se usa en esta solicitud y las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "uno o una" y "el o la" incluyen referentes plurales a menos que el contexto lo indique claramente de otro modo. Así, por ejemplo, la referencia a "una planta" incluye una o más plantas y la referencia a "una célula" incluye mezclas de células, tejidos y similares.

25 Se entiende que un "alelo" dentro del alcance de la invención se refiere a formas alternativas o variantes de diversas unidades genéticas idénticas o asociadas con diferentes formas de un gen o de cualquier clase de elemento genético identificable, que son alternativas en herencia debido a que están situadas en el mismo locus en cromosomas homólogos. Dichas formas alternativas o variantes pueden ser el resultado de polimorfismos de nucleótidos simples, inserciones, inversiones, traslocaciones o deleciones o la consecuencia de la regulación génica ocasionada, por ejemplo, por modificación química o estructural, regulación de transcripción o modificación/regulación postraduccional. En una célula u organismo diploide, los dos alelos de un gen o elemento genético determinado ocupan típicamente los locus correspondientes en un par de cromosomas homólogos.

30 Un alelo asociado a un rasgo cuantitativo puede comprender formas alternativas o variantes de diversas unidades genéticas incluyendo las que son idénticas o están asociadas a un solo gen o genes múltiples o sus productos o incluso un gen que interrumpe o es controlado por un factor genético que contribuye al fenotipo representado por dicho QTL.

35 Como se usa en la presente memoria, el término "alelo marcador" se refiere a una forma alternativa o variante de una unidad genética como se definió en la presente memoria anteriormente, cuando se usa como marcador para situar los locus genéticos que contienen alelos en un cromosoma que contribuye a la variabilidad de los rasgos fenotípicos.

40 Como se usa en la presente memoria, el término "reproducción" y variantes gramaticales del mismo, se refieren a cualquier proceso que genere un individuo de progenie. Las reproducciones pueden ser sexuales o asexuales o cualquier combinación de las mismas. Los tipos no limitantes ejemplares de las reproducciones incluyen cruces, autopolinización, generación de derivados haploides doblados y combinaciones de los mismos.

45 Como se usa en la presente memoria, la expresión "población de reproducción establecida" se refiere a una colección de potenciales parejas de reproducción producidas por y/o usadas como precursores en un programa de reproducción, por ej., un programa de reproducción comercial. Los miembros de la población de reproducción establecida están caracterizados típicamente genéticamente y/o fenotípicamente. Por ejemplo, se podían haber evaluado diversos rasgos fenotípicos de interés, por ej., en diferentes condiciones ambientales, en múltiples posiciones y/o en tiempos diferentes. Alternativamente o además, se podía haber identificado uno o más locus genéticos asociados a la expresión de los rasgos fenotípicos y se podía haber genotipificado uno o más de los miembros de la población de reproducción con respecto a uno o más locus genéticos así como con respecto a uno o más marcadores genéticos que están asociados a uno o más locus genéticos.

50 Como se usa en la presente memoria, la expresión "individuo diploide" se refiere a un individuo con dos series de cromosomas, típicamente una de cada uno de sus dos precursores. Sin embargo, se entiende que en algunas realizaciones un individuo diploide puede recibir sus series de cromosomas "maternas" y "paternas" del mismo único organismo, tal como cuando una planta se autopoliniza para producir una generación de plantas posterior.

Se entiende que "homocigótico" dentro del alcance de la invención se refiere a alelos semejantes en uno o más

locus correspondientes en cromosomas homólogos.

Se entiende que "heterocigótico" dentro del alcance de la invención se refiere a alelos diferentes en uno o más locus correspondientes en cromosomas homólogos.

5 Se entiende que "retrocruzamiento" dentro del alcance de la invención se refiere a un procedimiento en que una progenie híbrida se vuelve a cruzar repetidamente con uno de los precursores. Se pueden usar diferentes precursores recurrentes en retrocruzamientos posteriores.

Se entiende que "locus" dentro del alcance de la invención se refiere a una región en un cromosoma, que comprende un gen u otro elemento genético cualquiera o factor que contribuya a un rasgo.

10 Como se usa en la presente memoria, "locus marcador" se refiere a una región en un cromosoma, que comprende un nucleótido o una secuencia de polinucleótidos que está presente en un genoma del individuo y que está asociada a uno o más locus de interés, que puede comprender un gen u otro elemento genético cualquiera o factor que contribuya a un rasgo. "Locus marcador" también se refiere a una región en un cromosoma, que comprende una secuencia de polinucleótidos complementaria a una secuencia genómica, tal como una secuencia de un ácido nucleico usado como sondas.

15 Se entiende que "unión genética" dentro del alcance de la invención se refiere a una asociación de caracteres de herencia debido a la posición de los genes cerca en el mismo cromosoma, medida en porcentaje de recombinación entre locus (centi-Morgan, cM).

20 Como se usa en la presente memoria, la expresión "rasgo cuantitativo" se refiere a un rasgo fenotípico que se puede describir de manera numérica (*es decir*, cuantitativa o cuantificada). Un rasgo cuantitativo típicamente presenta variación continua entre individuos de una población; esto es, las diferencias en el valor numérico del rasgo fenotípico son pequeñas y se clasifican entre sí. Con frecuencia, la distribución de la frecuencia en una población de un rasgo fenotípico cuantitativo presenta una curva en forma de campana (*es decir*, presenta una distribución normal entre dos extremos). En el caso presente el rasgo cuantitativo presenta variación continua entre individuos de una población en términos de resistencia a los insectos del género *Bemisia* y/o el orden *Thysanoptera*, resistencia que se puntúa mediante un Ensayo de Resistencia a los Insectos normalizado usando una escala de 1-9 para evaluar la importancia de la infestación. Un rasgo cuantitativo es típicamente el resultado de un locus genético que interactúa con el entorno o de múltiples locus genéticos (QTL) que interactúan entre sí y/o con el entorno. Ejemplos de rasgos cuantitativos incluyen altura de la planta y cosecha.

30 Para el fin de la presente invención, el término "co-segregación" se refiere al hecho de que el alelo para la característica y el alelo o los alelos para los marcadores tienden a ser transmitidos juntos debido a que están cerca físicamente en el mismo cromosoma (recombinación reducida entre ellos debido a su proximidad física) dando como resultado una asociación no aleatoria de sus alelos como resultado de su proximidad en el mismo cromosoma. "Co-segregación" también se refiere a la presencia de dos o más rasgos en una sola planta de la que se conoce que es genética al menos una y que no se puede explicar fácilmente por azar.

35 Como se usa en la presente memoria, los términos "locus de rasgos cuantitativos" (QTL) y "asociación de rasgos de los marcadores" se refieren a una asociación entre un marcador genético y una región cromosómica y/o gen que afecta al fenotipo de un rasgo de interés. Típicamente, esto se determina estadísticamente, por ej., basándose en uno o más métodos publicados en la bibliografía. Un QTL puede ser una región cromosómica y/o un locus genético con al menos dos alelos que afectan de manera diferencial a un rasgo fenotípico (un rasgo cuantitativo o un rasgo cualitativo).

40 Como se usa en la presente memoria, el término "arquitectura genética en el QTL" se refiere a una región genómica que está correlacionada estadísticamente con el rasgo fenotípico de interés y representa la base genética subyacente del rasgo fenotípico de interés.

45 Como se usa en la presente memoria, las expresiones "cruzado sexualmente" y "reproducción sexual" en el contexto del contenido desvelado en el momento presente, se refieren a la fusión de gametos para producir progenie (*por ej.*, por fertilización, tal como para producir simiente por polinización en plantas). Un "cruce sexual" o "fecundación cruzada" es en algunas realizaciones fecundación de un individuo por otro (*por ej.*, polinización cruzada en plantas). El término "autopolinización" se refiere en algunas realizaciones a la producción de simiente por autofecundación o auto-polinización, es decir, el polen y el óvulo son de la misma planta.

50 Como se usa en la presente memoria, la expresión "marcador genético" se refiere a una cualidad de un genoma del individuo (*por ej.*, un nucleótido o una secuencia de polinucleótidos que está presente en un genoma del individuo) que está asociado a uno o más locus de interés. En algunas realizaciones, un marcador genético es polimórfico en una población de interés, o el locus está ocupado por el polimorfismo, dependiendo del contexto. Los marcadores genéticos incluyen, por ejemplo, polimorfismos de un solo nucleótido (los SNP), las indel (*es decir*, inserciones/delecciones), repeticiones de secuencias simples (las SSR), polimorfismos de longitud de fragmento de restricción (los RFLP), ADN polimórficos multiplicados al azar (los RAPD), marcadores de secuencia polimórficos multiplicados escindidos (CAPS), marcadores de Tecnología de Series Diversas (DArT) y polimorfismos en la

longitud de fragmentos multiplicados (los AFLP) (todos por sus siglas en inglés), entre otros muchos ejemplos. Se pueden usar marcadores genéticos, por ejemplo, para situar locus genéticos que contienen alelos en un cromosoma que contribuya a la variabilidad de los rasgos fenotípicos. La expresión "marcador genético" también se puede referir a una secuencia de polinucleótidos complementaria para una secuencia genómica, tal como una secuencia de un ácido nucleico usado como sondas.

Un marcador genético se puede situar físicamente en una posición en un cromosoma que esté dentro de o fuera del locus genético al que esté asociado (*es decir*, es intragénico o extragénico, respectivamente). Expresado de otra manera, mientras los marcadores genéticos se emplean típicamente cuando la posición en un cromosoma del gen o de una mutación funcional, por ej., dentro de un elemento de control fuera de un gen, que corresponde al locus de interés no se ha identificado y hay una proporción no nula de recombinación entre el marcador genético y el locus de interés, el contenido desvelado en el momento presente también puede emplear marcadores genéticos que estén físicamente dentro de los límites de un locus genético (por ej., dentro de una secuencia genómica que corresponda a un gen tal como, pero no limitado a, un polimorfismo en un intrón o un exón de un gen). En algunas realizaciones del contenido desvelado en el momento presente, uno o más marcadores genéticos comprenden entre uno y diez marcadores y en algunas realizaciones uno o más marcadores genéticos comprenden más de diez marcadores genéticos.

Como se usa en la presente memoria, el término "genotipo" se refiere a la constitución genética de una célula u organismo. Un "genotipo para una serie de marcadores genéticos" del individuo incluye los alelos específicos, para uno o más locus marcadores genéticos, presentes en el haplotipo del individuo. Como se conoce en la técnica, un genotipo se puede relacionar con un solo locus o con múltiples locus, si los locus están relacionados o no están relacionados y/o están unidos o no unidos. En algunas realizaciones, un genotipo del individuo se refiere a uno o más genes que se relacionan por que uno o más de los genes están implicados en la expresión de un fenotipo de interés (*por ej.*, un rasgo cuantitativo como se define en la presente memoria). Así, en algunas realizaciones un genotipo comprende un compendio de uno o más alelos presentes en un individuo en uno o más locus genéticos de un rasgo cuantitativo. En algunas realizaciones, un genotipo se expresa en términos de un haplotipo (definido en la presente memoria a continuación).

Como se usa en la presente memoria, el término "plasma germinal" se refiere a la totalidad de los genotipos de una población u otro grupo de individuos (por ej., una especie). El término "plasma germinal" también se puede referir a material de la planta, *por ej.*, un grupo de plantas que actúa como un depósito para diversos alelos. La expresión "plasma germinal adaptado" se refiere a materiales de la planta de superioridad genética demostrada, *por ej.*, para un determinado entorno o área geográfica, mientras las expresiones "plasma germinal no adaptado," "plasma germinal bruto" y "plasma germinal exótico" se refieren a materiales de la planta de valor genético desconocido o no demostrado, *por ej.*, para un determinado entorno o área geográfica; como tal, la expresión "plasma germinal no adaptado" se refiere en algunas realizaciones a materiales de la planta que no son parte de una población de reproducción establecida y que no presentan una relación conocida para un miembro de la población de reproducción establecida.

Como se usa en la presente memoria, los términos "híbrido", "planta híbrida" y "progenie híbrida" se refieren a un individuo producido de precursores genéticamente diferentes (por ej., un individuo genéticamente heterocigótico o mayoritariamente heterocigótico).

Como se usa en la presente memoria, la expresión "híbrido F<sub>1</sub> cruzado único" se refiere a un híbrido F<sub>1</sub> producido de un cruce entre dos estirpes endogámicas.

Como se usa en la presente memoria, la expresión "estirpe endogámica" se refiere a una población genéticamente homocigótica o casi homocigótica. Una estirpe endogámica, por ejemplo, se puede derivar por varios ciclos de reproducciones hermano/hermana o de autopolinización o en producción dihaploide. En algunas realizaciones, las estirpes endogámicas resultan genéticamente puras para una o más características fenotípicas de interés. Un "endogámico", "individuo endogámico" o "progenie endogámica" es un individuo muestreado de una estirpe endogámica.

Como se usa en la presente memoria, el término "estirpe dihaploide", se refiere a estirpes endogámicas estables transmitidas desde otro cultivo. Algunos granos de polen (haploide) cultivados en medio y circunstancias específicas pueden desarrollar plántulas que contienen n cromosomas. Estas plántulas son "dobladadas" después y contienen 2n cromosomas. La progenie de estas plántulas se denomina "dihaploide" y esencialmente no se segregan más (estables).

Como se usa en la presente memoria, el término "unión" y variantes gramaticales del mismo, se refiere a la tendencia de los alelos en diferentes locus en el mismo cromosoma a segregarse juntos con más frecuencia de lo que se esperaría por azar si su transmisión fuera independiente, en algunas realizaciones como consecuencia de su proximidad física.

Como se usa en la presente memoria, el término "locus" se refiere a una posición en un cromosoma (por ej., de un gen, un marcador genético o similares).

- 5 Como se usa en la presente memoria, la expresión "ácido nucleico" se refiere a cualquier cadena física de unidades de monómero que pueden corresponder a una cadena de nucleótidos, incluyendo un polímero de nucleótidos (por ej., un polímero de ADN, ADNc o ARN típico), oligonucleótidos modificados (por ej., oligonucleótidos que comprenden bases que no son típicas para ARN o ADN biológico, tal como oligonucleótidos 2'-O-metilados) y similares. En algunas realizaciones, un ácido nucleico puede ser monocatenario, bicatenario, multi-catenario o combinaciones de los mismos. A menos que se indique de otro modo, una secuencia de ácidos nucleicos particular del contenido desvelado en el momento presente comprende o codifica opcionalmente secuencias complementarias, además de cualquier secuencia indicada de manera explícita.
- 10 Como se usa en la presente memoria, la expresión "rasgo fenotípico" se refiere al aspecto u otra característica detectable de un individuo, dando como resultado la interacción de su genoma, proteoma y/o metaboloma con el entorno.
- 15 Como se usa en la presente memoria, la expresión "resistencia" se refiere a la capacidad de una planta para restringir el crecimiento y desarrollo de una plaga o patógeno especificado y/o el daño que ocasionan cuando se compara con plantas susceptibles en condiciones medioambientales y presión de plagas o patógenos similares. Las plantas resistentes pueden presentar algunos síntomas de enfermedad o daño bajo fuerte presión de plagas o patógenos.
- 20 Esencialmente se tienen que distinguir dos niveles de resistencia. La "resistencia alta o estándar" se refiere a plantas que restringen enormemente el crecimiento y desarrollo de la plaga o el patógeno especificado a presión normal de plagas o patógenos cuando se compara con contrapartidas susceptibles. Estas plantas pueden presentar, sin embargo, algunos síntomas o daño bajo gran presión de plagas o patógenos.
- 25 "Resistencia moderada/intermedia" se refiere a plantas que distraen a los insectos y/o restringen el crecimiento y desarrollo de la plaga o el patógeno especificado o muestran daño reducido comparado con contrapartidas susceptibles pero pueden presentar una gama mayor de síntomas o daño comparado con plantas de resistencia alta/estándar. Las plantas de resistencia moderada/intermedia aún mostrarán síntomas o daño significativamente menos graves que las plantas susceptibles cuando se cultivan en condiciones medioambientales y/o presión de plagas o patógenos similares.
- Como se usa en la presente memoria, la expresión "susceptibilidad" se refiere a la incapacidad de una planta para restringir de manera adecuada el crecimiento y desarrollo de una plaga o patógeno especificado.
- 30 Como se usa en la presente memoria, la expresión "resistencia a *Bemisia*" o "resistencia a infestaciones por *Bemisia*" o "planta resistente a *Bemisia*" se refiere a la capacidad de las plantas para resistir al ataque, infestación o colonización por el insecto. El nivel de resistencia presentado por una cierta planta se puede puntuar, por ejemplo, mediante un Ensayo de Resistencia a los insectos normalizado como se describe en el Ejemplo 2A en la presente memoria a continuación usando una escala de 1-9 para evaluar la importancia de la infestación.
- 35 Las plantas que puntúan 1 en dicho Ensayo de Resistencia a los Insectos están completamente cubiertas con crisálidas y muy enmohecidas con frecuencia atrasadas en el crecimiento, mientras que las plantas que puntúan 9 están completamente libres de crisálidas y así son totalmente resistentes. Se entiende que una "variedad susceptible" clásica (por ej., Vergasa F1 o Bikingo F1) para el fin de la presente invención se refiere a una planta que puntúa en un Ensayo de Resistencia a los Insectos como se describe en el Ejemplo 2A entre 3 y 4 donde las plantas muestran muchas crisálidas (100-400/hoja) abarrotadas en la hoja, normalmente acompañadas por moho negro.
- 40 Se entiende que una "planta resistente a *Bemisia*" para el fin de la presente invención, se refiere a una planta que puntúa en un Ensayo de Resistencia a los Insectos normalizado como se describe en el Ejemplo 2A en la presente memoria a continuación en un intervalo de entre 6 y 9, incluyendo 6 y 9.
- 45 Una resistencia moderada o intermedia a infestaciones por *Bemisia* empieza en una puntuación de 6 donde las plantas muestran un número de crisálidas moderado-relativamente bajo (20-50/hoja) que se distribuyen más regularmente sobre las hojas. A una puntuación de 7 sólo están presentes algunas crisálidas (5-20/hoja), que se dispersan de manera irregular sobre la hoja. Las plantas que puntúan 8 muestran sólo muy pocas (1-5/hoja) crisálidas y no resultan sensiblemente afectadas en crecimiento o desarrollo de fruto.
- 50 De acuerdo con esto, para el fin de la presente invención, por una planta que es "moderadamente resistente o resistente de manera intermedia" a infestación por *Bemisia*, se tiene que entender una planta que puntúa en el intervalo de entre 6 y 8 en una escala que oscila de 1-9, determinado en un Ensayo de Resistencia a los Insectos normalizado como se describe en el Ejemplo 2A en la presente memoria a continuación. Se entiende que una planta es "muy resistente" a *Bemisia*, si puntúa en el intervalo de entre 8 y 9, incluyendo 9.
- 55 Como se usa en la presente memoria, la expresión "resistencia a trips" o "resistencia a infestaciones por trips" o "planta resistente a los trips" se refiere a la capacidad de las plantas para resistir el ataque, infestación o colonización por el insecto. El nivel de resistencia presentado por una cierta planta se puede puntuar, por ejemplo, mediante un Ensayo de Resistencia a los Insectos normalizado como se describe en el Ejemplo 2B en la presente memoria a continuación usando una escala de 1 -9 para evaluar la importancia de la infestación juzgada sobre la

base del daño por alimentación observado (plateado).

5 Las plantas que puntúan 1 en dicho Ensayo de Resistencia a los Insectos muestran mucho plateado con una gran parte de la hoja dañada (>40% de plateado), mientras que las plantas que puntúan 9 no muestran daño por plateado (0% de plateado) y son así totalmente resistentes. Se entiende que una "variedad susceptible" estándar (por ej., Roxy F1 y/o Snooker F1) para el fin de la presente invención se refiere a una planta que puntúa en un Ensayo de Resistencia a los Insectos como se describe en el Ejemplo 2B entre 3 (11 %-20% de plateado) y 4 (6%-10% de plateado) donde las plantas muestran muchos puntos plateados grandes distribuidos por toda la hoja.

10 Se entiende que una "planta resistente a trips" para el fin de la presente invención se refiere a una planta que puntúa en un Ensayo de Resistencia a los Insectos normalizado como se describe en el Ejemplo 2B en la presente memoria a continuación en un intervalo de entre 5 y 9, incluyendo 5 y 9.

15 Una resistencia moderada o intermedia a infestaciones por trips empieza en una puntuación de 5 donde las plantas muestran un número moderado de puntos distribuidos más regularmente sobre las hojas (3%-5% de plateado). A una puntuación de 7 las plantas muestran sólo algunos puntos pequeños especialmente cerca de la vena media o filo de la hoja (0,1%-1% de plateado). Las plantas que puntúan 8 muestran sólo puntos diminutos y no resultan afectados sensiblemente en crecimiento o desarrollo de fruto (<0,1 % de plateado).

20 De acuerdo con esto, para el fin de la presente invención, por una planta que es "moderadamente resistente o resistente de manera intermedia" a infestación por trips, se tiene que entender una planta que puntúa en el intervalo de entre 5 y 8, en particular entre 6 y 8, en una escala que oscila de 1-9, determinado en un Ensayo de Resistencia a los Insectos normalizado, como se describe en el Ejemplo 2B en la presente memoria a continuación. Se entiende que una planta es "muy resistente" a trips, si puntúa en el intervalo de entre 8 y 9, incluyendo 9.

Los términos "cromosoma 3" y "cromosoma 5" significan que incluyen, y así se usan en la presente memoria como sinónimos con, los términos "grupo de unión 3 y 5" y/o "cromosoma equivalente de grupo de unión 3 y 5", respectivamente.

25 Como se usa en la presente memoria, el término "pluralidad" se refiere a más de uno. Así, una "pluralidad de individuos" se refiere a al menos dos individuos. En algunas realizaciones, el término pluralidad se refiere a más de la mitad del total. Por ejemplo, en algunas realizaciones una "pluralidad de una población" se refiere a más de la mitad de los miembros de esa población.

30 Como se usa en la presente memoria, el término "progenie" se refiere al descendiente o a los descendientes de un cruce particular. Típicamente, la progenie resulta de reproducción de dos individuos, aunque algunas especies (en particular algunas plantas y animales hermafroditas) se pueden autopolinizar (es decir, la misma planta actúa como el donador de gametos tanto masculinos como femeninos). El descendiente o los descendientes pueden ser, por ejemplo, del F<sub>1</sub>, el F<sub>2</sub> o cualquier generación posterior.

35 Como se usa en la presente memoria, la expresión "rasgo cualitativo" se refiere a un rasgo fenotípico que se controla por uno o algunos genes que presentan efectos fenotípicos principales. Debido a esto, los rasgos cualitativos son típicamente simplemente heredados. Ejemplos en plantas incluyen, pero no se limitan a, color de la flor, color del fruto y diversas resistencias a enfermedades conocidas tales como, por ejemplo, resistencia al moteado por Bacterias.

40 Se entiende que "selección a base de marcador" dentro del alcance de la invención se refiere a, por ej., el uso de marcadores genéticos para detectar uno o más ácidos nucleicos de la planta, donde el ácido nucleico está asociado a un rasgo deseado para identificar plantas que soportan genes para rasgos deseables (o no deseables), a fin de que esas plantas se puedan usar (o evitar) en un programa de reproducción selectivo.

45 Se entiende que "Marcador de tipo microsatélite o las SSR (Secuencias simples repetidas)" dentro del alcance de la invención, se refiere a un tipo de marcador genético que consiste en numerosas repeticiones de secuencias cortas de bases de ADN, que se encuentran en un locus por todo el genoma de la planta y tienen una probabilidad de ser altamente polimórficos.

Se entiende que "PCR (Reacción en cadena de la polimerasa, por sus siglas en inglés)" dentro del alcance de la invención se refiere a un método para producir cantidades relativamente grandes de regiones específicas de ADN o subserie(s) del genoma, que hace posible de ese modo diversos análisis que se basan en esas regiones.

50 Se entiende que "cebador de PCR" dentro del alcance de la invención se refiere a fragmentos relativamente cortos de ADN monocatenario usados en la multiplicación por PCR de regiones específicas de ADN.

Se entiende que "fenotipo" dentro del alcance de la invención se refiere a una característica o características distinguibles de un rasgo genéticamente controlado.

Se entiende que "polimorfismo" dentro del alcance de la invención se refiere a la presencia en una población de dos o más formas diferentes de un gen, marcador genético o rasgo heredado o un producto génico que se puede

obtener, por ejemplo, por corte y empalme alternativo, metilación de ADN, etc.

Se entiende que "reproducción selectiva" dentro del alcance de la invención se refiere a un programa de reproducción que usa plantas que poseen o indican rasgos deseables como precursores.

5 Se entiende que planta "comprobadora" dentro del alcance de la invención se refiere a una planta del género *Capsicum* usada para caracterizar genéticamente un rasgo en una planta que se tiene que ensayar.

Típicamente, la planta que se tiene que ensayar se cruza con una planta "comprobadora" y se puntúa la proporción de segregación del rasgo en la progenie del cruce.

10 "Sonda" como se usa en la presente memoria se refiere a un grupo de átomos o moléculas que es capaz de reconocer y unirse a una molécula o estructura celular diana específica y así permitir la detección de la molécula o estructura diana. En particular, "sonda" se refiere a una secuencia de ADN o ARN etiquetada que se puede usar para detectar la presencia de, y para cuantificar, una secuencia complementaria por hibridación molecular.

15 El término "hibridar" como se usa en la presente memoria se refiere a condiciones de hibridación convencionales, preferiblemente a condiciones de hibridación en que se usa disolución de 5xSSPE, 1% de SDS, 1 xDenhardtts como una disolución y/o las temperaturas de hibridación son entre 35°C y 70°C, preferiblemente 65°C. Después de hibridación, se realiza preferiblemente lavado primero con 2xSSC, 1% de SDS y con posterioridad con 0,2xSSC a temperaturas entre 35°C y 75°C, en particular entre 45°C y 65°C, pero especialmente a 59°C (considerando la definición de disolución de SSPE, SSC y Denhardtts véase Sambrook et al. loc. cit.). Se prefieren en particular condiciones de hibridación muy rigurosas como se describe por ejemplo en Sambrook et al, supra. Condiciones de hibridación rigurosas preferidas en particular están presentes, por ejemplo, si se realiza hibridación y lavado a 65°C como se indicó anteriormente. Las condiciones de hibridación no rigurosas por ejemplo con hibridación y lavado realizados a 45°C son menos preferidas y a 35°C incluso menos.

25 "Homología de Secuencias o Identidad de Secuencias " se usan en la presente memoria de manera indistinta. Los términos "idéntico" o porcentaje de "identidad" en el contexto de dos o más secuencias de ácidos nucleicos o proteínas, se refieren a dos o más secuencias o subsecuencias que son iguales o tienen un porcentaje especificado de restos aminoácido o nucleótidos que son iguales, cuando se comparan y se alinean para correspondencia máxima, cuando se mide usando uno de los siguientes algoritmos de comparación de secuencias o por inspección visual. Si dos secuencias que se tienen que comparar entre sí difieren en longitud, identidad de secuencias se refiere preferiblemente al porcentaje de los residuos de nucleótidos de la secuencia más corta que son idénticos a los residuos de nucleótidos de la secuencia más larga. La identidad de secuencias se puede determinar de manera convencional con el uso de programas informáticos tales como el programa Bestfit (Paquete de Análisis de Secuencias de Wisconsin, Versión 8 para Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive Madison, WI 53711). Bestfit utiliza el algoritmo de homología local de Smith y Waterman, Advances in Applied Mathematics 2 (1.981), 482-489, para encontrar el segmento que tiene la mayor identidad de secuencias entre dos secuencias. Cuando se usa Bestfit u otro programa de alineación de secuencias para determinar si una secuencia particular tiene por ejemplo 95% de identidad con una secuencia de referencia de la presente invención, los parámetros se ajustan preferiblemente para que el porcentaje de identidad se calcule por la longitud total de la secuencia de referencia y para que se permitan huecos de homología de hasta el 5% del número total de los nucleótidos en la secuencia de referencia. Cuando se usa Bestfit, se dejan preferiblemente los denominados parámetros opcionales en sus valores prefijados ("por defecto"). Las desviaciones que aparecen en la comparación entre una secuencia determinada y las secuencias ya descritas de la invención pueden ser ocasionadas por ejemplo por adición, delección, sustitución, inserción o recombinación. Dicha comparación de secuencias también se puede realizar preferiblemente con el programa "fasta20u66" (versión 2.0u66, Septiembre de 1.998 por William R. Pearson y la Universidad de Virginia; véase también W. R. Pearson (1.990), Methods in Enzymology 183, 63-98, ejemplos adjuntos y <http://workbench.sdsc.edu/>). Para este fin, se pueden usar los ajustes de los parámetros "por defecto".

45 Otro indicio de que dos secuencias de ácidos nucleicos son sustancialmente idénticas es que las dos moléculas se hibridan entre sí en condiciones rigurosas. La expresión "que se hibrida específicamente a" se refiere a la unión, duplicación o hibridación de una molécula sólo para una secuencia de nucleótidos particular en condiciones rigurosas cuando esa secuencia está presente en un ADN o ARN de mezcla compleja (por ej., celular total). "Se une o se unen sustancialmente" se refiere a hibridación complementaria entre un ácido nucleico de sonda y un ácido nucleico diana e incluye errores de emparejamiento minoritarios que se pueden ajustar reduciendo el rigor del medio de hibridación para conseguir la detección deseada de la secuencia de ácidos nucleicos diana.

55 "Condiciones de hibridación rigurosas" y "condiciones de lavado de la hibridación rigurosas" en el contexto de experimentos de hibridación de ácidos nucleicos tales como hibridaciones Southern y Northern dependen de la secuencia y son diferentes bajo diferentes parámetros medioambientales. Las secuencias más largas se hibridan específicamente a mayores temperaturas. Una extensa guía para la hibridación de ácidos nucleicos se encuentra en Técnicas de Laboratorio en Bioquímica y Biología Molecular-Hibridación con Sondas de Ácidos Nucleicos, parte I capítulo 2 de Tijssen (1.993) "Overview of principles of hybridization and the strategy of nucleic acid probe assays" Elsevier, Nueva York. En general, se selecciona que las condiciones de hibridación y lavado muy rigurosas sean aproximadamente 5°C menor que el punto de fusión térmico (T.sub.m) para la secuencia específica a una fuerza

iónica y pH definidos. Típicamente, bajo "condiciones rigurosas" una sonda se hibridará a su subsecuencia diana, pero no a otras secuencias.

La T.sub.m es la temperatura (a fuerza iónica y pH definidos) a la que el 50% de la secuencia diana se hibrida a una sonda perfectamente igualada. Se seleccionan condiciones muy rigurosas que sean iguales a la T.sub.m para una sonda particular. Un ejemplo de condiciones de hibridación rigurosas para hibridación de ácidos nucleicos complementarios con más de 100 residuos complementarios en un filtro en una prueba de Southern o northern blot es 50% de formamida con 1 mg de heparina a 42°C, realizándose la hibridación durante la noche. Un ejemplo de condiciones de lavado muy rigurosas es NaCl 0,1 5 M a 72°C, durante aproximadamente 15 minutos. Un ejemplo de condiciones de lavado rigurosas es un lavado con SSC 0,2 veces a 65°C, durante 15 minutos (véase, Sambrook, más adelante, para una descripción de tampón SSC). Con frecuencia, un lavado muy riguroso va precedido por un lavado poco riguroso para retirar la señal de fondo de la sonda. Un ejemplo de lavado de rigor medio para una duplicación de, por ej., más de 100 nucleótidos, es 1 vez SSC a 45°C, durante 15 minutos. Un ejemplo de lavado de poca rigurosidad para una duplicación de, por ej., más de 100 nucleótidos, es 4-6 veces SSC a 40°C durante 15 minutos. Para sondas cortas (por ej., aproximadamente 10 a 50 nucleótidos), las condiciones rigurosas implican típicamente concentraciones de sal menores que aproximadamente 1,0 M de ión Na, típicamente aproximadamente 0,01 a 1,0 M de concentración en ión Na (u otras sales) a pH 7,0 a 8,3 y la temperatura es típicamente al menos aproximadamente 30°C. También se pueden conseguir condiciones rigurosas con la adición de agentes desestabilizantes tales como formamida. En general, una relación señal a ruido de 2 veces (o mayor) que la observada para una sonda no relacionada en el ensayo de hibridación particular indica detección de una hibridación específica. Los ácidos nucleicos que no se hibridan entre sí en condiciones rigurosas son aún sustancialmente idénticos si las proteínas que codifican son sustancialmente idénticas. Esto tiene lugar, por ej., cuando se crea una copia de un ácido nucleico usando la degeneración máxima de codones permitida por el código genético.

Una "planta" es cualquier planta en cualquier fase de desarrollo, en particular una planta de simiente.

Una "célula de la planta" es una unidad estructural y fisiológica de una planta, que comprende un protoplasto y una pared celular. La célula de la planta puede estar en forma de una sola célula aislada o una célula cultivada o como una parte de unidades organizadas superiores tales como, por ejemplo, tejido de la planta, un órgano de la planta o una planta completa.

Un "cultivo de células de la planta" significa cultivos de unidades de la planta tales como, por ejemplo, protoplastos, células de cultivo de células, células en tejidos de plantas, polen, tubos de polen, óvulos, sacos embrionarios, cigotos y embriones en diversas fases de desarrollo.

"Material de la planta" se refiere a hojas, tallos, raíces, flores o partes de la flor, frutos, polen, células huevo, cigotos, semillas, esquejes, cultivos de células o tejidos o cualquier otra parte o producto de una planta.

Un "órgano de la planta " es una parte distinta y visiblemente estructurada y diferenciada de una planta tal como una raíz, tallo, hoja, capullo de flor o embrión.

"Tejido de la planta" como se usa en la presente memoria significa un grupo de células de la planta, organizadas en una unidad estructural y funcional. Se incluye cualquier tejido de una planta en planta o en cultivo. Este término incluye, pero no se limita a, plantas completas, órganos de la planta, semillas de la planta, cultivo de tejido y cualquier grupo de células de la planta organizadas en unidades estructurales y/o funcionales. El uso de este término junto con, o en ausencia de, cualquier tipo específico de tejido de la planta como se indicó anteriormente o se incluye de otro modo por esta definición no se desea que sea exclusivo de cualquier otro tipo de tejido de la planta.

La presente invención se refiere a nuevos pimenteros, en particular a plantas de *Capsicum annuum*, resistentes, en particular resistentes de manera intermedia, a los insectos, en particular a los insectos del género *Bemisia*, más en particular a *Bemisia tabaci* (mosca blanca), además a simiente y frutos de dichas plantas. La presente invención también se refiere a métodos para preparar y usar dichas plantas y sus frutos.

Se pueden obtener plantas según la invención por cruce de dos o más genotipos parentales, al menos uno de los cuales puede tener uno o más alelos, en particular uno o más alelos en el correspondiente QTL que contribuye a la resistencia a *Bemisia*, alelo o alelos que faltan en el otro genotipo parental o que complementan el otro genotipo para obtener una planta según la invención y como se describió en la presente memoria anteriormente. Si más de un QTL contribuye a la expresión del rasgo de la resistencia y los dos genotipos parentales originales no proporcionan la serie completa de alelos, se pueden incluir otras fuentes en la población de reproducción. El otro genotipo parental puede contribuir a un rasgo deseable incluyendo la calidad del fruto demandada por el mercado tal como, por ejemplo, un peso en el intervalo de 180 gramos, forma de bloque, piel lisa, color rojo brillante. Además de la calidad del fruto, características agrónomicamente importantes tales como, por ejemplo, una buena arquitectura de la planta, alta productividad y resistencias básicas a enfermedades tales como, pero no limitado a, TMV (virus del Mosaico del Tabaco) y TSWV (virus del Marchitamiento Moteado del Tomate) (ambos por sus siglas en inglés) son además rasgos deseados.

Estos genotipos parentales se pueden cruzar entre sí para producir simiente de progenie. Los genotipos parentales



pueden ser estirpes endogámicas desarrolladas por autopolinización de plantas heterocigóticas seleccionadas de campos con polinización no controlada o abierta y empleando procedimientos de selección recurrentes. Se autopolinizan plantas superiores y se seleccionan en generaciones sucesivas. En las generaciones con éxito la condición heterocigótica da paso a estirpes homogéneas como resultado de autopolinización y selección. Con generaciones sucesivas de endogamia, la planta llega a ser más y más homocigota y uniforme dentro de las plantas de la progenie. Típicamente, se pueden practicar cinco a siete o más generaciones (F1 a F2; F3 a F4; F4 a F5) de autopolinización y selección de linaje para obtener estirpes endogámicas que sean uniformes en las características de la planta y simiente y que permanecerán uniformes bajo auto-fecundación continuada.

Durante la endogamia, muchos alelos no deseables en los locus heterocigóticos se reemplazarán por alelos más favorables y los alelos no favorables o no deseados se eliminarán de la progenie. Por otra parte, por selección a base de marcador el número de alelos favorables se puede maximizar por que se identifican los alelos más desfavorables y se reemplazan sucesivamente por los alelos más favorables.

En una realización específica de la invención, el ascendiente natural, del que se puede obtener el rasgo de la resistencia a *Bemisia* y/o trips, es *Capsicum annuum* natural n° de acceso CGN16975 que se puede obtener del Instituut voor de Veredeling van Tuinbouwgewassen (ahora: Centro para Recursos Genéticos), Wageningen, Países Bajos. El rasgo de resistencia a los insectos según la presente invención, que confiere a una planta que exprese este rasgo, un nivel intermedio de resistencia a infestaciones con los insectos del género *Bemisia*, más en particular a *Bemisia tabaci* (mosca blanca) puede obtenerse, alternativamente, de la estirpe 061M4387 de *Capsicum annuum*, una muestra de la cual se ha depositado con NCIMB Ltd con el número de acceso NCIMB 41428 o de una progenie o ascendiente de la estirpe 061M4387 que comprende el rasgo de resistencia a *Bemisia*.

De acuerdo con esto, en una realización específica de la invención, el genotipo parental que contribuye al rasgo o rasgos de resistencia es una estirpe endogámica que tiene las propiedades relevantes de la invención de la estirpe 061M4387 de *Capsicum annuum*, es decir, sustancialmente la misma arquitectura del genoma en el QTL asociado a resistencia a *Bemisia*, muestras de simiente de la que se han depositado el 10 de agosto de 2.006 con NCIMB con número de acceso NCIMB 41428.

En otra realización específica de la invención, el genotipo parental que contribuye al rasgo de resistencia es un híbrido que tiene las propiedades relevantes de la invención de la estirpe 061M4387 de *Capsicum annuum*, es decir, sustancialmente la misma arquitectura genómica en el QTL asociado a la resistencia a *Bemisia*, muestras de simiente de la cual se han depositado el 10 de agosto de 2.006 con NCIMB con número de acceso NCIMB 41428.

La estirpe 061M4387 de *Capsicum annuum* dio como resultado un cruce de acceso natural n° CGN16975 que se puede obtener del Centro para Recursos Genéticos, Wageningen, Países Bajos como el donador del rasgo de resistencia con una estirpe endogámica de *Capsicum annuum*. La progenie resistente a *Bemisia* de este cruce se cruzó con otras estirpes endogámicas de diferentes antecedentes genéticos para obtener finalmente la estirpe 061M4387.

De acuerdo con esto, la estirpe 061M4387 de *Capsicum annuum* o cualquier otra estirpe de planta con el rasgo de resistencia a *Bemisia* de la estirpe 061M4387 de *Capsicum annuum*, se puede usar como un material de fuente para introducción de dicho rasgo de resistencia en cualquier antecedente genético para obtener un pimentero que sea muy resistente o resistente en grado medio, en particular resistente de manera intermedia, a infestaciones con los insectos del género *Bemisia*, más en particular a *Bemisia tabaci* (mosca blanca), puede contener además uno o más rasgos deseables tales como rasgos de calidad del fruto demandada por el mercado tales como, por ejemplo, un peso en el intervalo de 180 gramos, forma de bloque, piel lisa, color rojo brillante. Además de la calidad del fruto, características agrónomicamente importantes tales como, por ejemplo, una buena arquitectura de la planta, alta productividad y resistencias básicas a enfermedades tales como, pero no limitado a, TMV (virus del Mosaico del Tabaco) y TSWV (virus del Marchitamiento Moteado del Tomate) son además rasgos deseados.

Basándose en la descripción de la presente invención, el experto que está en posesión de estirpe 061M4387 de *Capsicum annuum*, una muestra de la cual se ha depositado con NCIMB Ltd con número de acceso NCIMB 41428, o de una progenie o ascendiente de la misma que contiene el QTL en el cromosoma 3 asociado a la resistencia a *Bemisia* y/o el QTL en el cromosoma 5 asociado a la resistencia a *Bemisia*, respectivamente, como se describió en la presente memoria anteriormente, no presenta dificultad para transferir el rasgo de resistencia a *Bemisia* de la presente invención a otros pimenteros de diversos tipos usando técnicas de reproducción conocidas en la técnica.

El rasgo de la presente invención se puede transferir, por ejemplo, a pimenteros que produzcan fruto de diversos tipos o formas, tales como pimientos, pimientos, guindillas, pimientos rectangulares grandes, pimientos cónicos, incluyendo pimientos cónicos largos o pimientos de tipo bloque y de diversos colores maduros, tales como planta de hoja perenne, rojo, amarillo, naranja o marfil. En otra realización de la invención, los pimenteros se cultivan para producción de simiente o de pimiento comercial.

Basándose en las explicaciones de la presente invención, un experto puede diseñar un programa para buscar nuevas fuentes para un rasgo, en particular un rasgo de resistencia, pero especialmente una resistencia a los insectos del género *Bemisia*.

En un aspecto de la invención, las plantas que expresan el rasgo resistente a los insectos y que presentan resistencia, en particular un nivel de resistencia intermedio, a infecciones con insectos del género *Bemisia*, se pueden identificar y seleccionar usando un ensayo de resistencia a *Bemisia*, dando como resultado un índice de resistencia que se usa y se reconoce comúnmente en la técnica de reproducción de pimiento.

- 5 En particular, las plantas se crían y se cultivan según procedimientos clásicos y se trasplantan según un diseño especial.

Las plantas se trasplantan en diversas hileras con un número de plantas fijado por hilera. En cada hilera se usa un lado como hilera esparcidora y se planta con una entrada susceptible o estirpe parental susceptible. La otra parte de la hilera se planta con las entradas en que se tiene que ensayar resistencia a los insectos. Las entradas de ensayo se aleatorizan completamente en cada uno de los diversos bloques, con 1 o más plantas/entrada por bloque.

- 10

Se controla el desarrollo de *Bemisia* en la hilera esparcidora cada semana o cada dos semanas por valoración de un número fijado de plantas de la hilera esparcidora en posiciones equidistantes (por ejemplo, planta 1, 38, 75, 112, 150) en cada hilera. Las valoraciones finales se realizan cuando la infestación media de las plantas esparcidoras controladas ha alcanzado un índice de resistencia de aprox. 4, que es cuando las crisálidas se abarrotan en la hoja en números mayores que 100/hoja. Normalmente, esta fase se alcanza en el momento en que los primeros frutos están madurando (3-4 meses después de trasplante).

- 15

Los datos se analizan calculando las medias por entrada de ensayo y comparación con una entrada susceptible (por ej., hilera esparcidora susceptible u otra). Una comparación múltiple de las medias (por ej., LSD) indica si las entradas de ensayo difieren mutuamente y de un control susceptible.

- 20 Para valorar la importancia, se usa una escala de 1-9 (Tabla 1). Se inspecciona el lado abaxial de las hojas de la planta y el promedio de las ca. 5 peores hojas afectadas se evalúa según la escala 1-9. Todas las plantas de ensayo se puntúan de esta manera.

En particular, las plantas se crían y se cultivan según procedimientos clásicos y se trasplantan según un diseño especial.

- 25 Alternativamente, se puede emplear reproducción estimulada por marcador para identificar a esos individuos donde los locus relevantes de la invención, en particular locus QTL relevantes de la invención y/o locus marcadores flanqueantes o locus marcadores unidos genéticamente a ello, como se describió en la presente memoria anteriormente presentan genotipos favorables, en particular genotipos favorables homocigóticos.

En una realización de la invención, se registra la resistencia a infestación por *Bemisia* en evaluación fenotípica.

- 30 En otra realización, la selección se basa en marcadores moleculares, que se unen a rasgos de interés.

En una realización, la selección se basa en una combinación de marcadores moleculares y evaluación fenotípica.

Se puede usar ya la selección a base de marcador en las fases tempranas de desarrollo endogámico, con frecuencia junto con métodos de detección sistemática que se basan ampliamente en características fenotípicas que se pueden determinar visualmente y están relacionados con índices de realización clave tales como, por ejemplo, vigor de la planta, longitud de entrenudos, ramificaciones, resistencia a los insectos tal como resistencia a infestaciones por *Bemisia* y/o trips, resistencias a virus tales como TMV (virus del Mosaico del Tabaco) y TSWV (virus del Marchitamiento Moteado del Tomate), etc., que son relevantes para la idoneidad de la planta que se tiene que utilizar en producción híbrida comercial. La selección también puede estar basada en marcadores moleculares, que pueden o no estar unidos a rasgos de interés.

- 35

- 40 En particular, la selección a base de marcador se puede aplicar junto con o seguido por una selección fenotípica para identificar a esos individuos donde todos los locus relevantes de la invención descritos en la presente memoria anteriormente presentan genotipos favorables homocigóticos.

Hay diversos tipos de marcadores moleculares que se pueden usar en la selección a base de marcador incluyendo, pero no limitándose a, polimorfismos de longitud de fragmento de restricción (RFLP), ADN polimórfico multiplicado al azar (RAPD), polimorfismo en la longitud de fragmentos de restricción multiplicados (AFLP), repeticiones de secuencias simples (SSR) y polimorfismos de nucleótido único SNP.

- 45

RFLP implica el uso de enzimas de restricción para cortar ADN cromosómico en sitios de restricción cortos específicos, los polimorfismos resultan de duplicaciones o deleciones entre los sitios o mutaciones en los sitios de restricción.

- 50 RAPD utiliza multiplicación de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de poco rigor con cebadores únicos de secuencia arbitraria para generar series específicas de la cepa de fragmentos de ADN anónimos. El método requiere sólo muestras de ADN diminutas y analizar un gran número de locus polimórficos.

AFLP requiere la digestión de ADN celular con una enzima o enzimas de restricción antes de usar PCR y

nucleótidos selectivos en los cebadores para multiplicar fragmentos específicos. Con este método, usando técnicas de electroforesis para visualizar los fragmentos obtenidos, hasta 100 locus polimórficos se pueden medir por combinación del cebador y sólo se requiere una pequeña muestra de ADN para cada ensayo.

5 El análisis SSR se basa en secuencias microsátélites de ADN (repetición corta) que se dispersan extensamente por todo el genoma de las eucariotas, que se multiplican de manera selectiva para detectar variaciones en las secuencias simples repetidas. Sólo se requieren muestras de ADN diminutas para un análisis SSR. Los SNP usan Ensayos de extensión de PCR que recogen con eficacia mutaciones puntuales. El procedimiento requiere poco ADN por muestra. Uno o dos de los métodos anteriores se pueden usar en un programa de reproducción de selección basada en marcadores típico.

10 El método más preferido para conseguir multiplicación de fragmentos de nucleótidos que extienden una región polimórfica del genoma de la planta emplea la reacción en cadena de la polimerasa ("PCR") (Mullis et al., Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 51: 263 273 (1.986)), usando pares de cebadores que implican un cebador en sentido directo y un cebador inverso que son capaces de hibridar las secuencias proximales que definen un polimorfismo en su forma bicatenaria.

15 Se pueden emplear métodos alternativos para multiplicar fragmentos, tales como la "Reacción en Cadena de Ligasa" ("LCR, por sus siglas en inglés") (Barany, Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A) 88: 189 193 (1.991)), que usa dos pares de sondas de oligonucleótidos para multiplicar de manera exponencial una diana específica. Las secuencias de cada par de oligonucleótidos se seleccionan para permitir que el par hibride a secuencias colindantes de la misma hebra de la diana. Dicha hibridación forma un sustrato para una ligasa dependiente del patrón. Como con PCR, los  
20 productos resultantes sirven así como un patrón en ciclos posteriores y se obtiene una multiplicación exponencial de la secuencia deseada.

Se puede realizar LCR con oligonucleótidos que tienen las secuencias proximal y distal de la misma hebra de un sitio polimórfico. En una realización, cualquier oligonucleótido se diseñará para que incluya el sitio polimórfico real del polimorfismo. En dicha realización, las condiciones de reacción se seleccionan de manera que los  
25 oligonucleótidos se puedan ligar juntos sólo si la molécula diana contiene o carece del nucleótido específico que es complementario al sitio polimórfico presente en el oligonucleótido. Alternativamente, los oligonucleótidos se pueden seleccionar de manera que no incluyan el sitio polimórfico (véase, Segev, Solicitud de Patente Internacional PCT WO 90/01069).

Otro método que se puede emplear alternativamente es el "Ensayo de Ligadura de Oligonucleótidos" ("OLA, por sus siglas en inglés") (Landegren et al, Science 241: 1.077 1.080 (1.988)). El protocolo OLA usa dos oligonucleótidos que se diseñan para que sean capaces de hibridar secuencias colindantes de una sola hebra de una diana. OLA, como LCR, es en particular adecuado para la detección de mutaciones puntuales. A diferencia de LCR, sin embargo, OLA da como resultado multiplicación "lineal" más bien que exponencial de la secuencia diana.

Otro método más que se puede emplear alternativamente es el "Ensayo Invasor" que usa una endonucleasa de solapa específica de la estructura (FEN, por sus siglas en inglés) para escindir un complejo tridimensional formado por hibridación de oligonucleótidos solapados específicos del alelo a ADN diana que contiene un sitio de polimorfismo de nucleótido único (SNP). La hibridación del oligonucleótido complementario al alelo SNP en la molécula diana provoca la escisión del oligonucleótido por escisión, una FEN termoestable. La escisión se puede detectar por diversas diferentes propuestas. Lo más comúnmente, el producto de escisión provoca una reacción de escisión secundaria en una casete de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET) para liberar una señal fluorescente. Alternativamente, la escisión se puede detectar directamente por el uso de sondas de polarización fluorescente (FP, por sus siglas en inglés) o por espectrometría de masas. La reacción de escisión invasiva es muy específica, presenta una baja tasa de fracaso y puede detectar cantidades de zeptomol de ADN diana. Mientras se ha usado el ensayo tradicionalmente para cuestionar a una SNP en una muestra por reacción, se han ensayado propuestas basadas en chip o cuentas nuevas para hacer este ensayo eficaz y preciso adaptable a multiplexación y genotipificación de SNP de alto rendimiento.

Nickerson et al, han descrito un ensayo de detección de ácidos nucleicos que combina atributos de PCR y OLA (Nickerson et al, Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 87: 8.923 8.927 (1.990)). En este método, se usa PCR para conseguir la multiplicación exponencial de ADN diana, que se detecta después usando OLA.

50 Los esquemas basados en ligadura de dos (o más) oligonucleótidos en presencia de un ácido nucleico con la secuencia del "di-oligonucleótido" resultante, multiplicándose de ese modo el di-oligonucleótido, también son conocidos (Wu et al., Genomics 4: 560 569 (1.989)) y se pueden adaptar fácilmente a los fines de la presente invención.

55 Un marcador molecular es un fragmento de ADN multiplicado por PCR, por ejemplo, un marcador SSR o un marcador RAPD. La presencia o ausencia de un fragmento de ADN multiplicado es indicativo de la presencia o ausencia de la propia característica o de un alelo particular del rasgo. Una diferencia en la longitud de un fragmento de ADN multiplicado es indicativa de la presencia de un alelo particular de un rasgo y así permite distinguir entre diferentes alelos de un rasgo.

Se usan marcadores de secuencias repetidas simples (SSR) para identificar alelos relevantes de la invención en las plantas precursoras y/o los ascendientes de las mismas, así como en las plantas de la progenie que resultan de un cruce de dichas plantas precursoras. Las repeticiones de secuencias simples son secuencias de ADN repetidas, cortas y presentes en los genomas de todas las eucariotas y consisten en varias a más de cien repeticiones de una unidad nucleótida determinada. Puesto que el número de repeticiones presente en una posición particular en el genoma con frecuencia difiere entre plantas, las SSR se pueden analizar para determinar la ausencia o presencia de alelos específicos.

Se usan marcadores SNP para identificar alelos relevantes de la invención en las plantas precursoras y/o los ascendientes de las mismas, así como en las plantas de la progenie que resultan de un cruce de dichas plantas precursoras.

En un aspecto, la invención se refiere a un marcador o una serie de dos o más marcadores y hasta 6 marcadores que comprende un par de cebadores oligonucleótidos PCR que consiste en un cebador en sentido directo y un cebador en sentido inverso seleccionado del grupo de par de cebadores 1 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 1 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 2, par de cebadores 2 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 3 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 4, par de cebadores 3 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 5 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 6, par de cebadores 4 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 7 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 8, par de cebadores 5 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 9 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 10 y par de cebadores 6 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 11 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 12, cebadores que conducen a un producto de multiplicación en una reacción PCR que presenta un peso molecular o una secuencia de nucleótidos, que es esencialmente idéntico o se puede considerar como un alelo para el de un correspondiente producto de multiplicación por PCR que se puede obtener de la estirpe 061M4387 de *Capsicum annuum* en una reacción PCR con el par o los pares de cebadores idénticos.

Cualquier otra combinación de cebadores en sentido directo y en sentido inverso seleccionados del grupo de secuencias de cebador representadas en las SEC ID Nos.1-12 también se puede usar en una reacción PCR.

En un aspecto, la invención se refiere a un marcador o una serie de dos o más marcadores y hasta 7 marcadores que comprende un par de cebadores oligonucleótidos de PCR que consiste en un cebador en sentido directo y un cebador en sentido inverso seleccionado del grupo de par de cebadores 7 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 13 y un cebador en sentido inverso de SEC ID. N° 14, que identifica el locus marcador 7; par de cebadores 8 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 15 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 16, que identifican el locus marcador 8; par de cebadores 9 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 17 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 18, que identifican el locus marcador 9; par de cebadores 10 representados por un cebador en sentido directo de SEC ID N° 19 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 20, que identifican el locus marcador 10; par de cebadores 11 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 21 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 22, que identifican el locus marcador 11; par de cebadores 12 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 23 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 24, que identifican el locus marcador 12 y par de cebadores 13 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 25 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 26, que identifican el locus marcador 13, cebadores que conducen a un producto de multiplicación en una reacción PCR que presenta un peso molecular o una secuencia de nucleótidos, que es esencialmente idéntico o se pueda considerar como un alelo al de un correspondiente producto de multiplicación por PCR que se puede obtener de la estirpe 061M4387 de *Capsicum annuum* en una reacción PCR con el par o los pares de cebadores idénticos.

Cualquier otra combinación de los cebadores de sentido directo y de sentido inverso seleccionados del grupo de secuencias de cebador representadas en las SEC ID Nos.13-26 también se puede usar en una reacción PCR.

En un aspecto, la invención se refiere a un marcador o como serie de dos o más marcadores y hasta 13 marcadores que comprende un par de cebadores oligonucleótidos de PCR que consiste en un cebador de sentido directo y uno de sentido inverso seleccionado del grupo de par de cebadores 1 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 1 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 2, par de cebadores 2 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 3 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 4, par de cebadores 3 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 5 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 6, par de cebadores 4 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 7 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 8, par de cebadores 5 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 9 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 10 y par de cebadores 6 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 11 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 12, par de cebadores 7 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 13 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 14, que identifican el locus marcador 7; par de cebadores 8 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 15 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 16, que identifican el locus marcador 8; par de cebadores 9 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 17 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 18, que identifican el locus marcador 9; par de cebadores 10 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 19 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 20, que identifican el locus marcador 10; par de

cebadores 11 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 21 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 22, que identifican el locus marcador 11; par de cebadores 12 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 23 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 24, que identifican el locus marcador 12 y par de cebadores 13 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 25 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 26, que identifican el locus marcador 13, cebadores que conducen a un producto de multiplicación en una reacción PCR que presenta un peso molecular o un secuencia de nucleótidos, que es esencialmente idéntico o se puede considerar como un alelo al de un correspondiente producto de multiplicación por PCR que se puede obtener de la estirpe 061M4387 de *Capsicum annuum* en una reacción PCR con el par o los pares de cebadores idénticos.

10 Cualquier otra combinación de los cebadores de sentido directo y de sentido inverso seleccionados del grupo de secuencias de cebador representadas en las SEC ID Nos.1-26 también se puede usar en una reacción PCR.

15 En otra realización de la invención, se pueden usar marcadores moleculares que están en desequilibrio de unión y/o unidos a y/o situados en la región QTL en el cromosoma 3 y cromosoma 5, respectivamente que comprende un QTL que contribuye a resistencia a *Bemisia* según la invención, así como a marcadores que representan las mutaciones causales reales subyacentes al QTL y así presenta correlación estadística con el rasgo fenotípico, marcador que se puede desarrollar usando los cebadores oligonucleótidos como se desvela en la SEC ID N° 1-12 y SEC ID Nos.13 a 26, respectivamente.

20 En una primera etapa, se obtienen muestras de ADN o ADNc de material de la planta adecuado tal como tejido de la hoja por extracción de ADN o ARN usando técnicas conocidas. Se usan después cebadores que flanquean una región que contiene SSR en el QTL relevante de la invención desvelado en la presente memoria anteriormente o en una región unido al mismo, para multiplicar la muestra de ADN usando el método de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) conocido para los expertos en la materia.

25 Básicamente, el método de multiplicación por PCR implica uso de un cebador o un par de cebadores que comprende dos secuencias de cebador de oligonucleótido cortas, flanqueando el segmento de ADN que se tiene que multiplicar o secuencias adaptadoras ligadas a dicho segmento de ADN. Los ciclos repetidos de calentamiento y desnaturalización del ADN van seguidos de hibridación de los cebadores a sus secuencias complementarias a bajas temperaturas y extensión de los cebadores hibridados con ADN polimerasa. Los cebadores hibridan a hebras opuestas de las secuencias diana de ADN. Hibridación se refiere a la hibridación de hebras de ADN complementarias, donde complementaria se refiere a la secuencia de los nucleótidos de manera que los nucleótidos de una hebra se puedan unir con los nucleótidos en la hebra opuesta para formar estructuras bicatenarias. Los cebadores se orientan a fin de que la síntesis de ADN por la polimerasa transcurre bidireccionalmente por la secuencia de nucleótidos entre los cebadores. Este procedimiento dobla con eficacia la cantidad de ese segmento de ADN en un ciclo. Debido a que los productos de PCR son complementarios a, y capaces de unirse a, los cebadores, cada ciclo sucesivo dobla la cantidad de ADN sintetizado en el ciclo previo. El resultado de este procedimiento es la acumulación exponencial de un fragmento diana específico, que es aproximadamente  $2^n$ , donde n es el número de ciclos.

35 Por multiplicación por PCR se hacen millones de copias del segmento de ADN flanqueado por los cebadores. Las diferencias en el número de secuencias repetidas o inserciones o deleciones en la región que flanquea dichas repeticiones, que está situada entre los cebadores flanqueantes en diferentes alelos se reflejan en variaciones de longitud de los fragmentos de ADN multiplicado. Estas variaciones se pueden detectar, por ejemplo, por separación electroforética de los fragmentos de ADN multiplicado en geles o usando un secuenciador capilar. Por análisis del gel o el perfil, se puede determinar si la planta contiene el alelo deseado en un estado homocigótico o heterocigótico o si el alelo deseado o no deseado está ausente del genoma de la planta.

45 Se puede hacer análisis de marcadores temprano en el desarrollo de la planta usando muestras de ADN extraídas de tejido de la hoja de plantas muy jóvenes o de simiente. Esto permite identificar las plantas con un constituyente genético deseable temprano en el ciclo de reproducción y desechar las plantas que no contienen los alelos relevantes de la invención deseados previamente a polinización, reduciendo así el tamaño de la población de reproducción y reduciendo los requerimientos de fenotipificación.

50 Además, usando marcadores moleculares, se puede hacer una distinción entre plantas homocigóticas que soportan dos copias del alelo relevante de la invención, deseado, en el locus de QTL relevante de la invención y plantas heterocigóticas que soportan sólo una copia y plantas que no contienen ninguna copia del alelo o de los alelos favorables.

55 En una realización de la invención, los locus marcadores se pueden identificar por un par de cebadores oligonucleótidos PCR que consiste en un cebador en sentido directo y un cebador en sentido inverso seleccionado del grupo de par de cebadores 1 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 1 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 2, par de cebadores 2 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 3 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 4, par de cebadores 3 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 5 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 6, par de cebadores 4 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 7 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N°

8, par de cebadores 5 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 9 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 10 y par de cebadores 6 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 11 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 12.

5 En una realización de la invención, los locus marcadores se pueden identificar por un par de cebadores oligonucleótidos PCR que consiste en un cebador en sentido directo y un cebador en sentido inverso seleccionado del grupo de par de cebadores 7 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 13 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 14, que identifican el locus marcador 7; par de cebadores 8 representados por un cebador en sentido directo de SEC ID N° 15 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 16, que identifican el locus marcador 8; par de cebadores 9 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 17 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 18, que identifican el locus marcador 9; par de cebadores 10 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 19 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 20, que identifican el locus marcador 10; par de cebadores 11 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 21 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 22, que identifican el locus marcador 11; par de cebadores 12 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 23 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 24, que identifican el locus marcador 12 y par de cebadores 13 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 25 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 26, que identifican el locus marcador 13.

20 Además se pueden usar dentro del alcance de la invención moléculas de oligonucleótidos, tales como cebadores o sondas, en particular cebadores que consisten en un cebador en sentido directo y un cebador en sentido inverso que presenta secuencias de nucleótidos que hibridan a las secuencias de nucleótidos de las secuencias de cebador de sentido directo y de sentido inverso proporcionadas en las SEC ID N° 1-12 mostradas en la Tabla 10 y en las SEC ID Nos. 13-26 mostradas en la Tabla 11 o a secuencias de nucleótidos que hibridan a una secuencia que puede ser obtenida usando secuencias de cebadores en sentido directo e inverso como se proporciona en la SEC ID N° 1-12 y SEC ID N° 13-26, respectivamente, en condiciones de rigurosidad media, en particular media a alta, en particular alta.

25 En particular, la reacción de hibridación se realiza en condiciones de rigurosidad alta en que se usa disolución de 5xSSPE, 1% de SDS, 1 xDenhardtts como una disolución y/o las temperaturas de hibridación son entre 35°C y 70°C y hasta 72°C, preferiblemente 65°C. Después de hibridación, se realiza en particular lavado primero con 2xSSC, 1% de SDS y con posterioridad con 0,2xSSC a temperaturas entre 35°C y 70°C y hasta 72°C, en particular a 65°C (considerando la definición de disolución de SSPE, SSC y Denhardtts, véase Sambrook et al. loc. cit.).

30 En un aspecto de la invención, se pueden desarrollar y usar marcadores que no se desvelan de manera explícita en la presente memoria o marcadores que incluso aún se tienen que identificar. Basándose en la información proporcionada en esta solicitud será posible, para un experto, identificar o desarrollar marcadores no desvelados de manera explícita pero unidos en el QTL o unidos a los marcadores desvelados. El experto sabe que otros marcadores pueden proporcionar al menos igual utilidad en la selección favorecida por marcadores.

35 La invención así también se refiere a marcadores moleculares que están en desequilibrio de unión y/o unidos a y/o situados en la región QTL en el cromosoma 3 y cromosoma 5, que comprenden respectivamente un QTL que contribuye a la resistencia a *Bemisia* según la invención, así como a marcadores que representan las mutaciones causales reales subyacentes al QTL y así presenta correlación estadística con el rasgo fenotípico, marcador que se puede desarrollar usando los cebadores oligonucleótidos como se desvela en la SEC ID N° 1-12 y las SEC ID Nos. 13 a 26, respectivamente.

40 Los marcadores genómicos contiguos que indican la posición del QTL en el genoma son principalmente arbitrarios o no limitantes. En general, la posición de un QTL se indica por una cadena contigua de marcadores que presentan correlación estadística con el rasgo fenotípico. Así es posible indicar la posición del QTL y la presencia o ausencia del QTL (y con eso el fenotipo) por otros marcadores situados en la región del QTL.

45 El número de marcadores potencialmente útiles es limitado pero puede ser muy grande y un experto puede identificar fácilmente marcadores adicionales a los desvelados en la solicitud. Cualquier marcador que esté unido a la resistencia como se desvela en la solicitud se puede usar en selección favorecida por marcadores.

50 Así, se pueden desarrollar por lo tanto marcadores por métodos conocidos para el experto y usar para identificar y seleccionar plantas con un alelo o una serie de alelos de uno o varios locus de rasgos cuantitativos según la presente invención y como se desveló en la presente memoria anteriormente.

55 Por ejemplo, la secuencia de nucleótidos del producto de multiplicación obtenido en la multiplicación por PCR usando los pares de cebadores como se indica en la Tabla 10 y la Tabla 11, respectivamente, que presenta una secuencia de nucleótidos como se proporciona en las SEC ID N° 1-12 y SEC ID Nos.13-26, se puede obtener por los expertos en la materia y diseñar nuevos cebadores o pares de cebadores basándose en la secuencia de nucleótidos recién determinada del producto de multiplicación por PCR. Además, los marcadores según la invención y desvelados en la presente memoria anteriormente se podían situar en un mapa genético de pimiento u otras especies, en particular especies Solanaceae y se podían usar marcadores conocidos que se cartografían en la

misma o región o regiones o región o regiones homólogas o región o regiones ortólogas como punto de partida para desarrollar nuevos marcadores.

Las secuencias de nucleótidos de los productos de multiplicación obtenidos en la multiplicación por PCR usando los pares de cebadores como se indica en la Tabla 10 y Tabla 11, respectivamente, que presentan una secuencia de nucleótidos como se proporciona en la SEC ID N° 1-12 y las SEC ID Nos. 13-26 o también se puede usar parte de la misma como sondas de hibridación, por ejemplo para investigar una biblioteca BAC, para identificar secuencias de nucleótidos unidos adicionales.

De acuerdo con esto, los marcadores desvelados específicamente en la presente invención también se pueden usar en la identificación y/o desarrollo de marcadores nuevos o adicionales asociados al QTL de interés, que a su vez se puede usar después en reproducción favorecida por marcadores y/o la búsqueda de recombinantes que flanqueen el QTL y/o buena cartografía y/o clonación del QTL.

Hay diversos métodos o propuestas disponibles, conocidos para los expertos en la materia, que se pueden usar para identificar y/o desarrollar marcadores en desequilibrio de unión y/o unidos a y/o situados en la región QTL, así como marcadores que representan las mutaciones causales reales subyacentes al QTL. Sin ser totalmente exhaustivas algunas propuestas, conocidas por los expertos en la materia, incluyen:

- *uso de secuencias /marcadores desvelados en propuestas de hibridación para identificar otra secuencia en la región de interés*: se pueden usar secuencias de cebador como se desvela en la presente memoria y/o secuencias de marcador /gen (o parte de los mismos) que se pueden determinar usando las secuencias de cebador como se desvela en la presente memoria como sondas (hibridación) en aislamiento de secuencias /genes de ácidos nucleicos que flanquean los marcadores y/o unidos y/o asociados y/o específicos para la región QTL de una muestra de ácidos nucleicos genómica y/o muestra de ARN o ADNc o conjunto de muestras (por ejemplo investigación de recursos genómicos como bibliotecas BAC o investigación de bibliotecas ADNg o ADNc).

- *uso de secuencias /marcadores desvelados en propuestas de PCR para identificar otra secuencia en la región de interés*: se pueden usar secuencias de cebadores como se desvela en la presente memoria y/o secuencias de marcador / gen (candidato) (o parte de las mismas) que se pueden determinar usando las secuencias de cebadores como se desvela, como cebadores de multiplicación (PCR) para multiplicar una secuencia de ácidos nucleicos /gen que flanquea y/o se une a y/o se asocia a y/o es específica para la región QTL de una muestra de ácidos nucleicos genómica y/o muestra o conjunto de muestras de ARN o ADNc aisladas o no de un tejido de la planta específico y/o después de tratamiento específico de la planta y de capsicum o en principio cualquier otro organismo con suficiente homología.

- *uso de secuencias /marcadores desvelados en propuestas de PCR para identificar otra secuencia en la región de interés*: se pueden determinar las secuencias de nucleótidos /genes de uno o más marcadores después de que se puedan diseñar y usar cebadores internos para dichas secuencias de marcadores para determinar adicionalmente secuencia/genes de flanqueo adicional en la región de QTL y/o unidos genéticamente y/o asociados al rasgo.

- *uso de secuencias /marcadores desvelados en cartografía y/o propuestas de cartografía comparativas para identificar marcadores en la misma región o en las mismas regiones (situación de QTL en otros mapas)*: basado en información posicional y/o información de los marcadores como se desvela en la presente memoria, los marcadores, de cualquier tipo, se pueden identificar por propuestas de cartografiado genético, eventualmente (si ya se requiere) colocación de los marcadores desvelados (por cartografiado o extrapolación basándose en marcadores comunes por los mapas) en un mapa o mapas genéticos (alta densidad) y/o mapa o mapas genéticos integrados o de consenso. Marcadores ya conocidos y/o nuevos marcadores unidos genéticamente y/o colocados en la proximidad de los marcadores desvelados y/o región QTL se pueden identificar y/u obtener y finalmente usar en aplicaciones de buen cartografiado de QTL y/o clonación de QTL y/o reproducción MAS.

- *uso de secuencias /marcadores desvelados en propuestas 'in-silico' para identificar secuencias /marcadores / genes (candidato) adicionales en la región o las regiones QTL*: se pueden usar secuencias de cebador como se desvela en la presente memoria y/o secuencias de marcador / gen (candidato) (o parte de las mismas) que se pueden determinar usando las secuencias de cebador como se desvela en la presente memoria o basándose en marcadores unidos, en métodos 'in-silico' para buscar la secuencia o las bases de datos de proteínas (por ej., BLAST) para flanqueo (adicional) y/o secuencias /genes homólogos y/o diversidad de alelos (secuencias tanto genómicas como/o de ADNc o incluso proteínas y procediendo tanto de capsicum como/o de cualquier otro organismo) unidos genéticamente y/o asociados a los rasgos como se describe en la presente memoria y/o situados en la región QTL.

- *uso de secuencias /marcadores desvelados en propuestas de cartografiado físico (posición de QTL en mapa físico o secuencia genómica)*: secuencias de cebador como se desvela en la presente memoria y/o secuencias de marcador /gen (o parte de las mismas) que se pueden determinar usando las secuencias de cebador como se desvela en la presente memoria o usando otros marcadores unidos genéticamente a los marcadores desvelados en la presente memoria y/o situados en la región QTL se pueden situar en un mapa físico y/o secuencia genómica (completa) en principio de cualquier organismo con suficiente homología para identificar secuencias /marcadores

/genes (candidato) aplicables en aplicaciones de (buen cartografiado) de QTL y/o clonación de QTL y/o reproducción MAS.

5 - uso de secuencias /marcadores desvelados en la posición QTL en otros mapas (físicos) o genomas (por especies ..... para pimiento otras Solanaceae como tomate y patata son de primer interés por supuesto pero se pueden usar especies de modelo como Arabidopsis): se pueden usar secuencias de cebador como se desvela en la presente memoria y/o secuencias de marcador /gen (o parte de las mismas) que se pueden determinar usando las secuencias de cebador como se desvela en la presente memoria, en propuestas de cartografiado de genomas o sintenia para identificar la región homóloga y secuencias homólogas y/u ortólogas /genes (candidato) unidos genéticamente y/o situados en la región del QTL y aplicables en las aplicaciones de (buen cartografiado) de QTL y/o clonación de QTL y/o reproducción MAS.

10 - uso de secuencias /marcadores desvelados para seleccionar los individuos apropiados para permitir la identificación de marcadores en la región de interés por propuestas genéticas: se pueden usar secuencias de cebador y/o marcadores como se desvela en la presente memoria para seleccionar individuos con alelos QTL diferentes /de contraste que, por ejemplo, se pueden usar en propuestas de asociación genética y/o análisis de segregación a través del volumen (BSA, Michelmore et al., 1.991) para identificar marcadores /genes en la región específica (región QTL) de interés y/o asociados o unidos genéticamente a los rasgos descritos.

15 - uso de información desvelada para buscar genes candidatos (posicionales): la información desvelada se puede usar para identificar genes candidatos posicionales y/o funcionales que pueden estar asociados a los rasgos descritos y/o unidos genéticamente.

20 En una realización, la invención por lo tanto se refiere a una planta de *Capsicum annuum* cultivada que comprende un genoma que comprende al menos un QTL que contribuye a la resistencia a *Bemisia*, QTL que está situado en el cromosoma 3, en la que al menos dicho QTL se puede identificar por un marcador molecular que presenta correlación estadística con el rasgo fenotípico, marcador que se puede desarrollar de un segmento de ADN que contiene dicho QTL por métodos conocidos en la técnica, segmento que se puede obtener de una planta que tiene los antecedentes genéticos de la estirpe 061M4387, en particular de una planta que tiene los antecedentes genéticos o la arquitectura genética en el QTL de la estirpe 061M4387, pero especialmente de una planta de la estirpe 061M4387, simiente representativa de la que se deposita en NCIMB con el N° de Acceso NCIMB 41428 o de una progenie o un ascendiente de la misma que comprende dicho QTL y definido por al menos un locus marcador, en particular a al menos dos locus marcadores, más en particular a al menos tres locus marcadores e incluso más en particular a al menos cuatro locus marcadores, pero especialmente a al menos cinco y hasta seis locus marcadores, locus marcadores que están en el cromosoma 3 y se co-segregan con el rasgo de resistencia a *Bemisia* y se pueden identificar por un cebador oligonucleótido PCR o un par de cebadores oligonucleótidos PCR seleccionados del grupo de par de cebadores 1 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 1 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 2, que identifican el locus marcador 1; par de cebadores 2 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 3 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 4, que identifican el locus marcador 2; par de cebadores 3 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 5 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 6, que identifican el locus marcador 3; par de cebadores 4 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 7 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 8, que identifican el locus marcador 4; par de cebadores 5 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 9 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 10, que identifican el locus marcador 5 y par de cebadores 6 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 11 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 12, que identifican el locus marcador 6.

45 En una realización, la invención por lo tanto se refiere a una planta de *Capsicum annuum* cultivada que comprende un genoma que comprende al menos dos QTL que contribuyen a la resistencia a *Bemisia*, QTL que está situado en el cromosoma 3 y 5, en la que al menos dichos dos QTL pueden ser identificados por un marcador molecular que presenta correlación estadística con el rasgo fenotípico, marcador que se puede desarrollar de un segmento de ADN que contiene dicho QTL por métodos conocidos en la técnica, segmento que se puede obtener de una planta que tiene los antecedentes genéticos de la estirpe 061M4387, en particular de una planta que tiene los antecedentes genéticos o la arquitectura genética en el QTL de la estirpe 061M4387, pero especialmente de una planta de la estirpe 061M4387, simiente representativa de la que se deposita en NCIMB con el N° de Acceso NCIMB 41428 o de una progenie o un ascendiente de la misma que comprende dicho QTL, en la que un primer QTL está situado en el cromosoma 3 en la planta donadora y unido genéticamente a al menos un locus marcador, en particular a al menos dos locus marcadores, en particular a al menos tres locus marcadores y en particular a al menos cuatro locus marcadores, en particular a al menos cinco locus marcadores, en particular a al menos seis locus marcadores, locus marcadores que están en el cromosoma 3 y se co-segregan con el rasgo de resistencia a *Bemisia* y se pueden identificar por un par de cebadores oligonucleótidos PCR 1 a 6 como se proporciona en las SEC ID Nos. 1 a 12 y en la que un segundo QTL está situado en el cromosoma 5 en la planta donadora y genéticamente unido, a al menos un locus marcador, en particular a al menos dos locus marcadores, en particular a al menos tres locus marcadores y en particular a al menos cuatro locus marcadores, en particular a al menos cinco locus marcadores, en particular a al menos seis locus marcadores y hasta siete locus marcadores, locus marcadores que están en el cromosoma 5 y se cosegregan con el rasgo de resistencia a *Bemisia* y se pueden identificar por un par de cebadores oligonucleótidos PCR seleccionados del grupo de pares de cebadores 7 a 13 como se proporciona en las SEC ID Nos. 13 a 26.



Los marcadores según la presente invención se pueden usar en selección favorecida por marcadores y/o cualquier otro método en el que se tracen las plantas que tengan o no el QTL. Los marcadores pueden ser marcadores trans o cis. Un marcador trans indica un polimorfismo que resulta de introgresión de ADN exógeno (donador) en un genoma de la planta receptora, polimorfismo que se une en cis con el genoma receptor, es decir, se une con el alelo opuesto. Así, los marcadores cis se unen con el alelo de interés (alelo QTL favorable del donador), mientras que los marcadores trans se unen con el alelo opuesto (del receptor).

Para determinar la utilidad de la estirpe endogámica y su potencial para contribuir genéticamente a la progenie híbrida se realiza un ensayo cruzado con otra estirpe endogámica y se evalúa fenotípicamente la progenie resultante. Los rasgos que se pueden registrar implican comúnmente rasgos que están relacionados con la forma del fruto y las características del fruto tales como fruta con punta o sin punta, picante o non picante, rojo, amarillo o naranja. Las características de las plantas como longitud de entrenudos, poder de crecimiento y ramificaciones también se consideran junto con resistencias específicas a virus tales como TMV (virus del Mosaico del Tabaco) y TSWV (virus del marchitamiento Moteado del Tomate).

Por genotipificación, se extrae ADN cartografiado de QTL o cartografiado por asociación de material de la planta adecuado tal como, por ejemplo, tejido de la hoja. En particular, se recogen volúmenes de hojas de una pluralidad de plantas. Se genotipan muestras de ADN usando una pluralidad de SSR polimórficas, SNP o cualquier otro tipo de marcador adecuado que cubra el genoma del pimiento completo.

Se pueden realizar análisis conjuntos de datos genotípicos y fenotípicos programas informáticos clásicos tales como, por ejemplo, el programa informático QTLCartographer y PlabQTL. Se pueden investigar los alelos en Plant introductions y germplasm en los correspondientes QTL, desvelado en la Tabla 10 y en la Tabla 11, respectivamente, basándose en la secuencia o secuencias de nucleótidos de los marcadores en el locus o los locus de los marcadores unidos a dicho QTL o cualquier otro marcador que se sabe que está situado en el cromosoma 3 y cromosoma 5, respectivamente y el peso molecular del alelo o de los alelos usando una o más de las técnicas desveladas en la presente memoria o conocidas para los expertos en la materia.

La secuencia de ácidos nucleicos de marcadores desvelada, marcadores unidos o el QTL de la presente invención se pueden determinar por métodos conocidos para el experto. Por ejemplo, una secuencia de ácidos nucleicos que comprende dicho QTL o una parte de la misma que confiere resistencia se puede aislar de una planta donadora resistente a Bemisia/Trips por fragmentación del genoma de dicha planta y seleccionando esos fragmentos que acogen uno o más marcadores indicativos de dicho QTL. Con posterioridad, o alternativamente, se pueden usar las secuencias de marcadores (o partes de las mismas) indicativas de dicho QTL como cebadores de multiplicación (PCR), para multiplicar (a) secuencia o secuencias de ácidos nucleicos que comprenden dicha forma de QTL, una muestra de ácidos nucleicos genómica o un fragmento genómico obtenido de dicha planta. La secuencia de nucleótidos del QTL y/o de cualquier marcador adicional comprendido en la misma, se puede obtener por métodos de secuenciación clásicos.

La presente invención, por lo tanto, también se refiere a una secuencia de ácidos nucleicos aislada (preferiblemente ADN pero no limitado a ADN) que comprende un QTL de la presente invención una parte que confiere resistencia a Bemisia de la misma. Así las descripciones de los marcadores se pueden usar para la identificación y aislamiento de uno o más marcadores o genes de pimiento u otros cultivos de verduras, en particular cultivos de Solanaceous que están unidos o codifican la resistencia a Bemisia.

La secuencia de nucleótidos de marcadores unidos adicionales o el QTL de la presente invención también se puede resolver por ejemplo por determinación de la secuencia de nucleótidos de uno o más marcadores asociados al QTL y diseñando cebadores para dichas secuencias de marcadores que se pueden usar después para determinar además la secuencia fuera de dicha secuencia de marcadores. Por ejemplo la secuencia de nucleótidos de los marcadores SSR desvelada en la presente memoria o cualquier otro marcador previsto en la región QTL y/o unido al QTL puede ser obtenido por secuenciación del producto de multiplicación por PCR de dichos marcadores, conocidos en la técnica. O alternativamente, usando las secuencias de marcadores en un PCR o como sondas de hibridación para identificar secuencias de nucleótidos unidas por, por ejemplo pero no limitado a, investigación BAC.

### Ejemplos

Los siguientes Ejemplos proporcionan realizaciones ilustrativas. A la vista de la presente descripción y el nivel general de destreza en la técnica, los expertos apreciarán que se destinan los siguientes Ejemplos a ser sólo ejemplares y que se pueden emplear numerosos cambios, modificaciones y alteraciones sin apartarse del alcance del contenido reivindicado en el momento presente.

Ejemplo 1: Estirpe 061M4387 de reproducción de pimiento Historial de Reproducción

Usando un bioensayo cuantitativo como se describió anteriormente en el Ejemplo 2 junto con las condiciones apropiadas de cultivo se identificó un acceso de *Capsicum annuum* natural como una fuente de resistencia a *Bemisia tabaci* y a infestaciones por trips. Se obtuvieron simientes de este acceso natural con acceso n° CGN16975 y denominación del acceso: AC 1979 del Instituut voor de Veredeling van Tuinbouwgewassen (ahora Centro para Recursos Genéticos), Wageningen, Países Bajos. Se creó una población segregadora para la resistencia a *Bemisia*

y trips cruzando este pimentero donador con un pimentero receptor susceptible. Se creó una población de segregación que consistía en un total de 333 estirpes DH para la identificación de uno o más QTL que contribuyen a la resistencia a *Bemisia* y trips.

5 La fuente inicial de resistencia acceso CGN16975 natural se cruzó con una endogámica Holandesa de Syngenta seleccionada en Westland (Países Bajos). La progenie F3 de este cruce se identificó como resistente, en particular resistente de manera intermedia, a mosca blanca (observación visual) en Almería (España).

Después se generó un cruce (BC1) entre la F3 mencionada en el párrafo anterior y una estirpe de Syngenta criada en Almería. La progenie de este cruce se identificó como resistente, en particular resistente de manera intermedia, a mosca blanca y trips (en Agadir-Marruecos; trips - observaciones visuales) y se usó para el siguiente cruce (BC2).

10 El BC2 fue generado con una estirpe dihaploide de Syngenta criada en Almería (España). De las familias de la planta en el F2 de este cruce se desarrollaron diversos dihaploides (=333) para caracterizar la herencia del rasgo de resistencia a mosca blanca y trips. Entre ellos, la estirpe 061M4387, depositada con NCIMB con n° de Acceso NCIMB 41428 se mostró que era resistente de manera intermedia a *Bemisia tabaci* e infestaciones por trips.

Ejemplo 2: Ensayo de Resistencia

15 2A Resistencia a *Bemisia* - Protocolo de Ensayo

2A.1 Cultivo de la planta

Las plantas se siembran y se cultivan según procedimientos clásicos en particular, se siembran plantas en una multibandeja por ej., 77 (multimacetas de 4,2 x 4,2 x 5,9 cm) llena con suelo quebradizo, bien drenado, con un pH entre 6,5 y 7,5 y cultivado durante aprox., un mes en un túnel. Se fertilizaron las plantas con N 4,0-6,0 P 0,35-1,0; K 4,0-6,0 de EC2.

20 Se trasplantaron las plantas según diseño especial (véase a continuación) y se cultivaron según procedimientos clásicos. Durante el cultivo de la planta, las plantas con frecuencia requieren ser protegidas de parásitos distintos de *Bemisia*. Se realizó tratamiento químico con pesticidas que sólo tienen un impacto minoritario sobre el desarrollo de la población de *Bemisia*.

25 2A.2 Cultivo e inoculación del insecto

Para asegurar un desarrollo estable y uniforme de la población de *Bemisia* y para obtener condiciones de ensayo más rigurosas, se realizó una inoculación temprana de las plantas con *Bemisia*. Para esto se usó un invernadero de plástico pequeño separado en que se cultivó un cultivo de pimiento en condiciones estándar. Se usó la población de *Bemisia* presente de manera natural para inocular el material de ensayo.

30 Se pueden usar dos métodos para inoculación:

1) Uso de calabacita como planta trampa, se pusieron plántulas de calabacita de 2-3 semanas en el invernadero de plástico pequeño con el cultivo de *Bemisia* durante 4-6 horas. Debido a que los adultos de *Bemisia* tienen una fuerte preferencia por la calabacita, volarán rápidamente a las plántulas de calabacita. Las plantas de calabacita con los adultos de *Bemisia* se envolvieron cuidadosamente después con una bolsa de plástico y se transfirieron al túnel experimental y se liberaron de manera homogénea sobre las plantas. La inoculación empieza ca., de 10 d después de trasplante y se puede continuar durante 1-2 semanas como sea necesario.

2) Las plántulas de pimiento jóvenes cultivadas en bandejas se pusieron 4-5 días antes de trasplante en el invernadero de plástico pequeño con el cultivo de *Bemisia* que permite que el adulto *Bemisia* ponga huevos sobre las plantas jóvenes. A partir de ahora las plantas se pueden trasplantar al bitúnel más grande.

40 2A.3 Diseño experimental

Se usó un bitúnel grande en Agadir con 8 hileras de ca. 2 x 150 plantas cada una. En cada hilera se usó un lado como hilera esparcidora y se plantaron con una entrada susceptible (existiendo F1 por ej., Bikingo F1 o Vergasa F1, o, estirpe parental susceptible). La otra parte de la hilera se plantó con las entradas de ensayo. Las entradas de ensayo se aleatorizaron completamente en cada uno de al menos 7 bloques con 1 o más plantas/entrada por bloque.

45 2A.4 Recogida de datos

Se controló el desarrollo de *Bemisia* en la hilera esparcidora cada semana o cada dos semanas evaluando 5 plantas de la hilera esparcidora en posiciones equidistantes (planta 1, 38, 75, 112, 150) en cada hilera. Las valoraciones finales se hicieron cuando la infestación media de las plantas esparcadoras controladas fue aprox. 4 (Tabla 1) normalmente en el momento en que los primeros frutos están madurando (3-4 meses después de trasplante).

Para valorar la importancia, se usa una escala de 1-9 (Tabla 1). El lado abaxial de las hojas de la planta se

inspeccionó y se valoró el promedio de las ca. de 5 peores hojas afectadas según la escala 1-9. Todas las plantas del ensayo se puntuaron de esta manera.

Tabla 1: Escala de valoración para resistencia WF.

escala	descripción WF	##crisálidas <sup>1</sup>
9	no crisálidas	0
8	muy pocas crisálidas	1-5
7	algunas crisálidas dispersadas irregularmente sobre la hoja	5-20
6		20-50
5	número moderado de crisálidas distribuidas más regulares sobre las hojas	50-100
4		100-200
3	muchas crisálidas, abarrotadas en la hoja (moho negro presente)	200-400
2		400-700
1	planta completamente cubierta con crisálidas y muy enmohecida con frecuencia retrasada en el crecimiento	700-1.000

<sup>1</sup>: estimación de ## crisálidas por hoja: casos sin crisálidas y crisálidas maduras

5 2A. 5 Análisis de los datos

Se analizaron los datos calculando las medias por entrada de ensayo y comparación con una entrada susceptible (por ej., hilera esparcidora susceptible u otra). Una comparación múltiple de las medias (por ej., LSD) indica si las entradas de ensayo difieren mutuamente y de un control susceptible.

2A.6 Resultados

10 2A.6.1 Ensayo de resistencia

15 La Tabla 2 muestra algunos de los resultados de la investigación de *Bemisia* en Agadir (Marruecos) de la estirpe 061M438 7 depositada (que contiene QTL1 (referida en la presente memoria como el QTL en el cromosoma 3) y QTL2 (referida en la presente memoria como el QTL en el cromosoma 5), véase el ejemplo 3), dos de sus ascendientes y el donador de resistencia. El historial de reproducción se explica en el ejemplo 1. La estirpe 061M4387 depositada demostró que era significativamente mejor bajo presiones de insectos variables, estaciones y condiciones comparado con variedades o estirpes susceptibles clásicas.

Tabla 2: Resultados de ensayos con la estirpe 061M4387 depositada y algunos de sus ascendientes.

Entrada	Estirpe resistente	Control <sup>1</sup> susc.		ensayo	observación
CGN16975 (donador) BC1F3	muy resistente* muy resistente*	muy susc*		primavera 2.002	*puntuó visualmente en prueba de reproducción
CGN16975 (donador) BC1F4	Media      n 8,8        20 8,5        20	Media 6,6	LSD <sup>2</sup> 0,4	Dic. 2.002	presión de insectos relativamente baja
estirpe depositada 061M4387	Media      n 8,0        7	Media 4,2	LSD 1,2	Ag. 2.005	presión de insectos moderada-alta

(continuación)

Entrada	Estirpe resistente		Control <sup>1</sup> susc.		ensayo	observación
061M4387	6,4	7	3,0	1,5	Nov. 2.005	presión
061M4387	6,7	20	3,8	0,6	Junio 2.006	presión de insectos alta
061M4387	8,0	10	5,2	1,4	Febr. 2.007	presión

<sup>1</sup>En las pruebas anteriores se usan Vergasa F1, Bikingo F1 o estirpes parentales (todas susceptibles) tanto como control susceptible como como hilera esparcidora.

<sup>2</sup>Intervalos LSD ( $P < 0,05$ ) basados en comparación de medias de muchos entradas incluidos en la prueba (no mostrado).

#### 5 2A. 6. 2 Identificación de QTL asociado a la resistencia

La Tabla 3 muestra los resultados de una investigación de una serie de 333 estirpes DH desarrolladas fuera de un BC2F2 para el fin de identificación de los QTL asociados a la resistencia (véanse los ejemplos 1 y 3). Se realizaron dos ensayos en las estirpes DH: ensayo 1 se plantó en primavera de 2.005 y se puntuó en Agosto, el segundo ensayo se plantó en Septiembre de 2.005 y puntuó en Noviembre. La infestación promedio en Agosto fue inferior comparado con Noviembre (Tabla 3). En la prueba de Noviembre algunos puntos en el invernadero tenían una presión de insectos muy alta como consecuencia se pudieron obtener fenotipos no fiables. Esos puntos fueron excluidos, por lo tanto, del análisis.

Se identificaron dos QTL (véase el ejemplo 3). El QTL (QTL1) en el cromosoma 3 presentó el valor LOD más grande (hasta 50), el QTL (QTL2) en el cromosoma 5 presentó un valor LOD menor (hasta 5).

15 Basándose en los marcadores de flaqueo se identificaron 69 estirpes DH sin QTL, 57 estirpes DH presentaron QTL1 sólo, 38 estirpes DH presentaron QTL2 sólo, y, 63 estirpes DH tuvieron QTL1 y QTL2 juntos.

El efecto de QTL 1 fue en ambas pruebas significativo y se estimó en la prueba de agosto 1,3 unidades de la escala y en la prueba de noviembre 1,9 unidades de la escala (Tabla 3). Debido a la menor infestación en agosto muchas estirpes puntuaron un 7-8 alcanzando un techo minimizando posiblemente las diferencias entre las estirpes. En la prueba de noviembre las diferencias entre estirpes fueron mayores debido al mayor nivel de infestación. El efecto de QTL2 fue más pronunciado en la prueba de agosto (unidad de escala 0,6) comparado con la prueba de noviembre.

Tabla 3: Resultados de una investigación de una serie de 333 estirpes DH desarrolladas fuera de un BC2F2 para el fin de identificación de los QTL asociados a la resistencia.

	no QTL	QTL1	QTL2	QTL1 y 2
Ag	5,9a*	7,2c	6,5b	7,6d
Nov	4,1a	6,0b	4,3a	6,1b
Prom.	5,0	6,6	5,4	6,8

\*: letras similares muestran no diferencia estadística (LSD,  $P < 0,05$ ) en periodo de observación

#### 25 2A6.3 Ensayo del efecto de QTL1 en 5 familias BC3

Para estimar el efecto de QTL 1 en diferentes familias de antecedentes, se realizaron cinco BC3 con 5 diferentes precursores BC y una estirpe resistente derivada que contenía QTL1. 556 estirpes DH procedentes de estas BC3 se genotipificaron para QTL1 y se ensayó en Agadir (Feb. 2.007, Tabla 4) en las mismas condiciones descritas previamente. El efecto de QTL1 se estimó entre 1,8 – 2,3 unidades de magnitud para las diferentes familias (Tabla 4) que confirma el efecto significativo de QTL1 (ANOVA de dos -colas, QTL1 Cuadrada Media = 521,3;  $F = 698,7$ ;  $P < 0,001$ , no interacciones entre familia y presencia de QTL1).

Tabla 4: Efecto de QTL1 sobre infestación de *Bemisia* en 5 familias BC3 ensayadas en Agadir Feb. 2.007.

Presencia de familia QTL1		media	n	dif.
1	NoQTL	5,2	51	1,8
	QTL1	7,0	46	
2	no QTL	4,7	47	2,0
	QTL1	6,8	38	
3	no QTL	5,2	60	2,1
	QTL1	7,3	145	
4	no QTL	4,9	37	2,2
	QTL1	7,2	57	
5	no QTL	4,9	42	2,3
	QTL1	7,3	33	
total			556	

5 2A.6.4 Ensayo del efecto de los QTL 1 y 2 sobre daño por *Bemisia* en una serie de 60 estirpes DH procedentes de un cruce con donador CGN16975 y dos estirpes de pimienta de élite.

La fuente inicial de resistencia, acceso CGN16975 natural, se cruzó con dos estirpes de élite (A y B). De estas dos procedían F1 en total 60 estirpes dihaploides (34 de la estirpe A y 26 de la estirpe B). 58 de estas estirpes se ensayaron en su mayoría dos veces (entre Dic. de 2.003 y Diciembre de 2.004) para resistencia a *Bemisia*.

10 Tabla 5: Efecto estimado de QTL 1 y 2 sobre resistencia a *Bemisia* en una pequeña población de DH procedente de F1 entre acceso CGN 16975 natural y 2 estirpes de pimienta de élite. Se proporciona el promedio de 2 ensayos.

	no QTL	QTL1	QTL2	QTL1 y 2
	n=11	n=17	n=17	n=13
promedio	4,0a*	5,9,0b	5,1 ab	5,9b

\*Letras similares indican no diferencias significativas (ANOVA, seguido por comparación de medias con el método de Mínima Diferencia Significativa de Fisher LSD, P<0,05). \*\* significativamente diferencias de no QTL a P=0,06.

El efecto de QTL1 se estimó en ca. 1,9 unidades de magnitud y el efecto de QTL 2 se estimó en 1,1 unidades de magnitud en estas poblaciones.

15 2B Resistencia a Trips - Protocolo de Ensayo

2B.1 Cultivo de la planta

20 Se siembran plantas en suelo de turba estándar y se trasplantan después de 14 d a macetas de 7x7x8cm. Se cultivaron las plantas en un invernadero a 20°C/18°C y 16 h/8 h día/noche. Aproximadamente 1 mes después de la siembra, se transfirieron las plantas a una caja de 1x1x1m cubierta con una malla de nailon (0,07x0,27 mm) evitando que los trips salieran de la caja. En cada caja se liberaron 400-500 trips. Esto se repitió 1 semana más tarde para asegurar una alta presión de insectos. Tres-cuatro semanas después de la primera inoculación, se hizo la observación.

## 2B.2 Cultivo e inoculación del insecto

5 Se mantuvo un cultivo viable de trips y se usó para experimentos de resistencia. Se recogieron del cultivo 400-500 trips (incluyendo tanto adultos como juveniles) en un vial con un dispositivo de succión de insectos estándar. Se liberó con posterioridad el vial con trips en la caja de ensayo. Después de inoculación se elevó la temperatura a 24 °C continua (día/noche).

## 2B.3 Diseño experimental

10 En cada caja se pusieron uno o más controles de resistencia (preferiblemente CGN16975) y uno o más controles susceptibles (por ej., Roxy F1 y/o Snooker F1). En total se pueden poner 57 plantas en una caja sola. Las plantas (incluyendo las plantas de control) se aleatorizaron para cada caja. En las estirpes DH ensayadas para *Bemisia* (véase el Ejemplo 1 anterior) se ensayó resistencia a trips de esta manera. Se realizaron siete experimentos consecutivos para ensayar todas las 333 estirpes DH con 12 plantas (máx.) por estirpe.

## 2B.4 Recogida de datos

15 Las valoraciones finales se hicieron cuando la infestación promedio de las plantas de control susceptibles fue 3-4 (Tabla 6). Normalmente esto se alcanza 3-4 semanas después de inoculación.

Para evaluar daño por plateado, se usó una escala de 1-9 (Tabla 6). El lado abaxial de las hojas de la planta se inspeccionó y el promedio de las ca. 2-3 peores hojas afectadas se valoró según la escala 1-9. Se puntuaron todas las plantas de ensayo de esta manera.

Tabla 6: Escala de valoración para daño por plateado ocasionado por *Frankliniella occidentalis*.

escala	descripción daño por Trips	% plateado <sup>1</sup>
9	no daño por plateado	0
8	puntos diminutos	<0,1
7	algunos puntos pequeños especialmente cerca de la vena media o filo de la hoja	0,1-1
6		1-2
5	número moderado de puntos distribuidos más regulares sobre las hojas	3-5
4		6-10
3	muchos puntos grandes por plateado presentes distribuidos sobre la hoja entera	11-20
2		21-40
1	mucho plateado, gran parte de la hoja dañada	>40

20 <sup>1</sup>:estimación de % de plateado de las 2-3 hojas más afectadas

## 2B. 5 Análisis de los datos

Se analizaron los datos calculando las medias por entrada de ensayo y comparación con una entrada susceptible (por ej., Roxy F1 y/o Snooker F1). Una comparación múltiple de las medias (por ej., LSD) indicó si las entradas del ensayo diferían mutuamente y de un control susceptible.

## 25 2B.6 Resultados

## 2B.6.1 Ensayo de resistencia

30 La Tabla 7 muestra como un ejemplo los resultados de CGN16975, dos controles susceptibles (Roxy F1 y Snooker F1) y la estirpe 061M4387 depositada que poseía QTL1 y QTL2. Se proporcionan promedios de 3 ensayos independientes cada uno con ca. 12 plantas/entrada. La estirpe depositada mostró significativamente menos plateado comparado con las dos estirpes de control susceptibles Snooker F1 y Roxy F1 pero más plateado comparado con el donador CGN16975. Esto indica que la estirpe depositada tiene un nivel elevado de resistencia comparado con variedades estándar.

Tabla 7: Resultados de fenotipificado de la estirpe 061M4387 depositada, CGN16975 y dos variedades susceptibles (Roxy F1 y Snooker F1).

entrada	n	plateado *
Snooker F1	36	3,5a
Roxy F1	36	3,8 a
061M4387	31	5,8b
CGN16975	36	7,3c

5 \*Letras similares indican no diferencias significativas (ANOVA, seguido por comparación de medias con el método de Mínima Diferencia Significativa de Fisher LSD,  $P < 0,05$ ).

2B.6.2 Identificación de QTL asociado a la resistencia a trips.

10 El análisis de QTL (véase el ejemplo 3) en las 333 estirpes DH (véase el ejemplo 1) reveló un QTL en el cromosoma 5, con un valor LOD hasta 12. Este QTL se situó en la misma región que QTL2 identificado en la cartografía de QTL de *Bemisia* (véase el ejemplo 2A.6). El QTL para *Bemisia* en el cromosoma 5 y el QTL para trips están situados en la misma región cromosómica. Podía ser un solo QTL con un efecto tanto contra *Bemisia* como trips o dos QTL unidos.

2B.6.3 Ensayo de efecto de QTL2 sobre daño por trips en una serie de 333 estirpes DH desarrolladas fuera de un BC2F2.

15 El efecto de los QTL de trips se estimó de manera similar como se hizo para *Bemisia* (véase 2A.6) basado en la gran serie 333 DH. El QTL mostró un efecto significativo de ca. 0,8 unidades de magnitud (Tabla 8).

Tabla 8: Efecto estimado de QTL 2 sobre daño por trips (plateado) en grandes poblaciones BC2F2 de estirpes 333 DH (los posibles recombinantes fueron excluidos).

	no QTL n=122	QTL2 n=91
Plateado	4,5	5,3*

\*Diferencia significativa (ensayo-t,  $t = -8,29$ ,  $P < 0,001$ ).

20 2B.6.4 Ensayo del efecto de QTL2 sobre el daño por trips en una serie de 60 estirpes DH procedentes de un cruce con donador CGN16975 y dos estirpes de pimiento de élite.

Se sometieron 53 estirpes DH de la misma serie de 60 estirpes DH procedentes de acceso CGN16975 cruzado con dos estirpes de élite (A y B, véase la sección 2A.6.4) dos veces a un ensayo de trips y se comprobó la presencia de QTL2.

25 El QTL2 mostró un efecto significativo de 1,0 unidad de magnitud (Tabla 9) que está en un nivel comparable como en la gran serie 333 DH descrita en 2B.6.3 (Tabla 8).

Tabla 9: Efecto estimado de QTL 2 sobre daño por trips (plateado) en una pequeña población de DH procedente de F1 entre acceso CGN16975 natural y 2 estirpes de pimiento de élite.

	no QTL n=26	QTL2 n=27
Plateado	4,3	5,3*

\*Diferencia significativa (ensayo-t,  $t = -3,86$ ,  $P < 0,001$ ).

Ejemplo 3: Cartografía de QTL

30 3.1 Cartografía de QTL para resistencia a *Bemisia*.

Usando el bioensayo cuantitativo descrito anteriormente en el Ejemplo 2A junto con condiciones apropiadas de cultivo se identificó una fuente de resistencia a *Bemisia*. Se creó una población segregadora para la resistencia a

- Bemisia* por cruce de este pimentero donador con un pimentero receptor susceptible. Se creó una población segregadora que consistía en un total de 333 estirpes DH para la identificación de QTL que contribuye a la resistencia a *Bemisia*. Se extrajo ADN de un conjunto de hojas de 8 plantas individuales de cada estirpe DH y las plantas precursoras de la población siguiendo protocolos estándar. Se investigaron los precursores de la población usando diversos cientos de SSR para identificar las SSR que son polimórficas entre los precursores. Con posterioridad, la población DH se genotipificó usando los marcadores SSR polimórficos identificados. Basándose en los datos de segregación así obtenidos se preparó un mapa de marcadores moleculares usando el programa informático usado comúnmente Mapmaker and Joinmap. Los marcadores representan regiones genómicas polimórficas entre los precursores de la población.
- 5
- 10 Se realizó cartografía de QTL, es decir análisis conjunto de datos genotípicos y fenotípicos usando el programa informático QTLCartographer. Se identificaron los QTL que está situados en diferentes cromosomas incluyendo un QTL en el cromosoma 3, que se demostró que estaba asociado a resistencia a *Bemisia*. El QTL se caracteriza por medio de marcadores situados en el mapa genético y alelos marcadores que se sabe que están situados en la región QTL. De ese modo se establece la posición de una o múltiples secuencias de ADN que confieren resistencia.
- 15 Los detalles del QTL asociado a la resistencia a *Bemisia*, es decir marcadores flanqueadores y marcadores situados en la región QTL se representan en la Tabla 10.

### 3.2 Cartografía de QTL para resistencia a trips.

Se tomó la propuesta idéntica que se describió en el Ejemplo 3.1 anterior para cartografiar el QTL asociado a la resistencia a trips.

- 20 Se identificó un QTL, que se demostró que estaba asociado a resistencia a trips, en el cromosoma 5. El QTL se caracteriza por medio de marcadores situados en el mapa genético y alelos marcadores de marcadores que se sabe que están situados en la región QTL. De ese modo se establece la posición de una o múltiples secuencias de ADN que confieren resistencia. Los detalles del QTL asociado a la resistencia a trips, es decir marcadores flanqueadores y marcadores situados en la región QTL se representan en la Tabla 11.



Tabla 10: Detalles del QTL asociado a resistencia a *Bemisia*, es decir, marcadores flanqueadores y marcadores situados en la región QTL.

QTL Resistencia Bemisia#	Cromo soma #	Locus Marca dor	Marca dor Unido	Cebador Sentido Directo	Cebador F Secuencia ID Número	Cebador Sentido Inverso	Cebador R Secuencia ID Número
1	3	1	LM1001	TGCTGGGAAAGATCT CAAAGG	SEC. ID N° 1	ATCAAGGAAGCAAACCA ATGC	SEC. ID N° 2
1	3	2	LM 1002	GCAGCGTTACCAAAT AACCG	SEC. ID N° 3	TGTTTGCTATTCAATATA TGCTTTGA	SEC. ID N° 4
1	3	3	LM 1003	GGAAGCTTAGCCACA CATC	SEC. ID N° 5	ACCATATTTCCGACTTTG AAC	SEC. ID N° 6
1	3	4	LM 1004	TCCATCATCGACTGG AGAC	SEC. ID N° 7	TGTTCAATTGGCTTCTGT G	SEC. ID N° 8
1	3	5	LM 1005	GCAAGTAGAACAAG GGTAGG	SEC. ID N° 9	TATTTGAAGGTTGTGCG AC	SEC. ID N° 10
1	3	6	LM 1006	TCATCACATTCACTT CATTTC	SEC. ID N° 11	TTGATTCATTTCAGATAG TTCAAG	SEC. ID N° 12

Tabla 11: Detalles del QTL asociado a resistencia a trips, es decir, marcadores flanqueadores y marcadores situados en la región QTL

QTL Resistencia Bemisia/Trips #	Cromo soma #	Locus Marca dor	Marca dor Unido	Cebador Sentido Directo	Cebador F Secuencia ID Número	Cebador Sentido Inverso	Cebador R Secuencia ID Número
2	5	7	LM 2001	CTTTGGAGGTAGCG GTATG	SEC. ID N° 13	CAACAAACGAACCACAA TG	SEC. ID N° 14
2	5	8	LM 2002	CCCGTTTACAAGCA AAGAG	SEC. ID N° 15	GACCCCTGAAGAACCCTC TC	SEC. ID N° 16
2	5	9	LM 2003	TCTCTTGTGACAGCA CGTCG	SEC. ID N° 17	CTTCTTGAGGCATTTTT G	SEC. ID N° 18
2	5	10	LM 2004	TGTAGGATTACAAG AACATTATCG	SEC. ID N° 19	GCGAGCTATTACACCGA AG	SEC. ID N° 20
2	5	11	LM 2005	TAGGTGGGAATACA CTGGG	SEC. ID N° 21	CCCAGATCTACCAAGGA GTC	SEC. ID N° 22
2	5	12	LM 2006	TCGGCCTGACTAGT ATTGAC	SEC. ID N° 23	CGGGTACCAGATGTAGG G	SEC. ID N° 24
2	5?	13	LM 2007	ATCGTGAGGTGAGT ACGAG	SEC. ID N° 25	TACTACATACCCCCACC C	SEC. ID N° 26

Depósito

5 Los solicitantes han hecho un depósito con una fecha efectiva de 10 de agosto de 2.006 de al menos 2.500 semillas de estirpe 061M4387 de *Capsicum annuum* con el NCIMB Ltd, Ferguson Building, Craibstone Estate, Bucksburn, Aberdeen, AB21 9YA, Escocia, con el nº de acceso NCIMB 41428.

10 La invención anterior se ha descrito con detalle como ilustración y ejemplo para fines de claridad y entendimiento. Sin embargo, será evidente que se pueden practicar algunos cambios y modificaciones tales como modificaciones y mutaciones de un solo gen, variantes somaclonales, individuos variantes seleccionados de grandes poblaciones de plantas de la endogamia inmediata y similar, dentro del alcance de la invención, limitados sólo por el alcance de las reivindicaciones adjuntas. Así, aunque la invención anterior se ha descrito con algún detalle en este documento, será evidente que se pueden practicar cambios y modificación dentro del alcance de la invención, limitados sólo por el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Participaciones AG Syngenta  
 <120> PLANTA RESISTENTE A LOS INSECTOS  
 <130> N1070 PCT BS  
 <150> 07290556.5  
 <151> 02-05-2.007  
 <150> 07119649.7  
 <151> 30-10-2.007  
 <160> 26  
 <170> PatentIn versión 3.4  
 <210> 1  
 <211> 22  
 <212> ADN  
 <213> secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Capsicum annuum  
 <400> 1  
 tgctgggaaa gatctcaaaa gg 22  
 <210> 2  
 <211> 21  
 <212> ADN  
 <213> secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Capsicum annuum  
 <400> 2  
 atcaaggaag caaaccaatg c 21  
 <210> 3  
 <211> 20  
 <212> ADN  
 <213> secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Capsicum annuum  
 <400> 3  
 gcagcggttac caaataaccg 20  
 <210> 4  
 <211> 26  
 <212> ADN  
 <213> secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Capsicum annuum  
 <400> 4  
 tgtttgctat tcaatatatg ctttga 26  
 <210> 5  
 <211> 19

<212> ADN	
<213> secuencia artificial	
<220>	
<223> Capsicum annuum	
<400> 5	
ggaagcttag ccacacatc	19
<210> 6	
<211> 21	
<212> ADN	
<213> secuencia artificial	
<220>	
<223> Capsicum annuum	
<400> 6	
accatatttc cgactttgaa c	21
<210> 7	
<211> 19	
<212> ADN	
<213> secuencia artificial	
<220>	
<223> Capsicum annuum	
<400> 7	
tccatcatcg actggagac	19
<210> 8	
<211> 19	
<212> ADN	
<213> secuencia artificial	
<220>	
<223> Capsicum annuum	
<400> 8	
tgttcaattg gcttctgtg	19
<210> 9	
<211> 21	
<212> ADN	
<213> secuencia artificial	
<220>	
<223> Capsicum annuum	
<400> 9	
gcaagtagaa caaaggtag g	21
<210> 10	
<211> 19	
<212> ADN	
<213> secuencia artificial	
<220>	
<223> Capsicum annuum	
<400> 10	
tatttgaagg ttgtgcgac	19

<210> 11  
 <211> 22  
 <212> ADN  
 <213> secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Capsicum annum  
  
 <400> 11  
 tcatcacatt cacttcattt tc 22  
  
 <210> 12  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Capsicum annum  
  
 <400> 12  
 ttgattcatt tcagatagtt caag 24  
  
 <210> 13  
 <211> 19  
 <212> ADN  
 <213> secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Capsicum annum  
  
 <400> 13  
 ctttgagggt agcgggatg 19  
  
 <210> 14  
 <211> 19  
 <212> ADN  
 <213> secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Capsicum annum  
  
 <400> 14  
 caacaaacga accacaatg 19  
  
 <210> 15  
 <211> 19  
 <212> ADN  
 <213> secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Capsicum annum  
  
 <400> 15  
 cccgttaca agcaaagag 19  
  
 <210> 16  
 <211> 19  
 <212> ADN  
 <213> secuencia artificial  
  
 <220>

<223> Capsicum annuum  
 <400> 16  
 gaccctgaa gaacctctc 19  
  
 <210> 17  
 <211> 19  
 <212> ADN  
 <213> secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Capsicum annuum  
 <400> 17  
 tctcttgca gacacgtcg 19  
  
 <210> 18  
 <211> 19  
 <212> ADN  
 <213> secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Capsicum annuum  
 <400> 18  
 cttcttgag gcatttttg 19  
  
 <210> 19  
 <211> 24  
 <212> ADN  
 <213> secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Capsicum annuum  
 <400> 19  
 tgtaggatta caagaacatt atcg 24  
  
 <210> 20  
 <211> 19  
 <212> ADN  
 <213> secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Capsicum annuum  
 <400> 20  
 gcgagctatt acaccgaag 19  
  
 <210> 21  
 <211> 19  
 <212> ADN  
 <213> secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> Capsicum annuum  
 <400> 21  
 taggtggaa tacactggg 19  
  
 <210> 22  
 <211> 20

<212>	ADN		
<213>	secuencia artificial		
<220>			
<223>	Capsicum annuum		
<400>	22		
	cccagatcta ccaaggagtc		20
<210>	23		
<211>	20		
<212>	ADN		
<213>	secuencia artificial		
<220>			
<223>	Capsicum annuum		
<400>	23		
	tcggcctgac tagtattgac		20
<210>	24		
<211>	18		
<212>	ADN		
<213>	secuencia artificial		
<220>			
<223>	Capsicum annuum		
<400>	24		
	cgggtaccag atgtaggg		18
<210>	25		
<211>	19		
<212>	ADN		
<213>	secuencia artificial		
<220>			
<223>	Capsicum annuum		
<400>	25		
	atcgtgaggt gagtacgag		19
<210>	26		
<211>	19		
<212>	ADN		
<213>	secuencia artificial		
<220>			
<223>	Capsicum annuum		
<400>	26		
	tacctacata cccccacc		19



## REIVINDICACIONES

1. Una planta de *Capsicum annuum* cultivada que es resistente de manera intermedia a *Bemisia*, en la que dicha planta contiene un genoma que comprende un "QTL" que contribuye a la resistencia a *Bemisia*, QTL que está situado en el cromosoma 3 y en la que dicho QTL está unido genéticamente a al menos un locus marcador, en particular a al menos dos locus marcadores, más en particular a al menos tres locus marcadores e incluso más en particular a al menos cuatro locus marcadores, pero especialmente a al menos cinco y hasta seis locus marcadores, locus marcadores que están en el cromosoma 3 y se co-segregan con el rasgo de resistencia a *Bemisia* y se pueden identificar por un cebador oligonucleótido de PCR o un par de cebadores oligonucleótidos de PCR seleccionados del grupo de par de cebadores 1 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 1 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 2, que identifican el locus marcador 1; par de cebadores 2 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 3 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 4, que identifican el locus marcador 2; par de cebadores 3 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 5 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 6, que identifican el locus marcador 3; par de cebadores 4 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 7 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 8, que identifican el locus marcador 4; par de cebadores 5 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 9 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 10, que identifican el locus marcador 5 y par de cebadores 6 representado por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 11 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 12, que identifican el locus marcador 6.
2. Una planta de *Capsicum annuum* cultivada según la reivindicación 1, en la que dicha planta contiene un genoma que comprende un segundo "QTL" que contribuye a la resistencia a *Bemisia*, QTL que está situado en el cromosoma 5 y en la que dicho QTL está unido genéticamente a al menos un locus marcador, en particular a al menos dos locus marcadores, en particular a al menos tres locus marcadores y en particular a al menos cuatro locus marcadores, en particular a al menos cinco locus marcadores, en particular a al menos seis locus marcadores y hasta siete locus marcadores, locus marcadores que están en el cromosoma 5 y se co-segregan con el rasgo de resistencia a *Bemisia* y se pueden identificar por cebador oligonucleótido PCR o un par de cebadores oligonucleótidos PCR seleccionados del grupo de par de cebadores 7 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 13 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 14, que identifican el locus marcador 7; par de cebadores 8 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 15 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 16, que identifican el locus marcador 8; par de cebadores 9 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 17 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 18, que identifican el locus marcador 9; par de cebadores 10 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 19 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 20, que identifican el locus marcador 10; par de cebadores 11 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 21 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 22, que identifican el locus marcador 11; par de cebadores 12 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 23 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 24, que identifican el locus marcador 12 y par de cebadores 13 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 25 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 26, que identifican el locus marcador 13.
3. Una planta de *Capsicum annuum* cultivada según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, que contiene un genoma que comprende al menos un locus de rasgos cuantitativos ("QTL") que contribuye a la resistencia a *Bemisia*, en la que dicho QTL se puede obtener de una planta donadora que tiene los antecedentes genéticos de la estirpe 061M4387, en particular de una planta que tiene los antecedentes genéticos o la arquitectura genética en el QTL de la estirpe 061M4387, pero especialmente de una planta de la estirpe 061M4387, simiente representativa de la que se deposita en NCIMB con el N° de Acceso NCIMB 41428 o de una progenie o un ascendiente de la misma que comprende dicho QTL.
4. Una planta de *Capsicum annuum* cultivada según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que dicha planta comprende un alelo en dicho locus de rasgos cuantitativos ("QTL") asociado a la resistencia a *Bemisia*, en la que dicho alelo es definido por al menos un alelo marcador en al menos dicho locus marcador unido al QTL, alelo marcador que se caracteriza por el producto de multiplicación por PCR del respectivo cebador oligonucleótido o par cebador.
5. Simiente que se cultiva en una planta según cualquiera de las reivindicaciones precedentes.
6. Fruto de una planta según cualquiera de las reivindicaciones precedentes.
7. Uso de un QTL asociado a resistencia a *Bemisia* para conferir resistencia a *Bemisia* en una planta de *Capsicum annuum* que carece de dicho QTL, en la que dicho QTL se puede obtener de la estirpe 061M4387, simiente representativa de la que se deposita con el N° de Acceso NCIMB 41428 y en la que dicho QTL se puede identificar en una reacción PCR por un par de cebadores oligonucleótidos PCR, como se desvela en la SEC ID N° 1-12 o SEC ID N° 13-26.
8. Un método para producir fruto de planta de pimiento que comprende:
- a) cultivar una planta según cualquiera de las reivindicaciones precedentes;

b) permitir que dicha planta de fruto y

c) recoger fruto de dicha planta.

9. Un método para producir simiente de planta de pimiento que comprende:

a) cultivar una planta de *Capsicum annuum* según cualquiera de las reivindicaciones precedentes;

5 b) recoger fruto de dicha planta y

c) extraer simiente de dicho fruto.

10. Un método para identificar en una planta de *Capsicum annuum* un locus de rasgos cuantitativos ("QTL") que contribuye a la resistencia a *Bemisia* que comprende usar en una reacción PCR:

10 a) un cebador oligonucleótido PCR o un par de cebadores oligonucleótidos PCR seleccionado del grupo de par de  
 cebadores 1 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 1 y un cebador en sentido inverso de  
 la SEC ID N° 2, que identifican el locus marcador 1; par de cebadores 2 representados por un cebador en sentido  
 directo de la SEC ID N° 3 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 4, que identifican el locus marcador 2;  
 par de cebadores 3 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 5 y un cebador en sentido  
 inverso de la SEC ID N° 6, que identifican el locus marcador 3; par de cebadores 4 representados por un cebador en  
 sentido directo de la SEC ID N° 7 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 8, que identifican el locus  
 15 marcador 4; par de cebadores 5 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 9 y un cebador en  
 sentido inverso de la SEC ID N° 10, que identifican el locus marcador 5 y par de cebadores 6 representados por un  
 cebador en sentido directo de la SEC ID N° 11 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 12, que identifican el  
 locus marcador 6 o cualquier otro cebador o par de cebadores que identifique un locus marcador en el cromosoma 3  
 20 que está correlacionado estadísticamente con el rasgo de resistencia a *Bemisia* y/o

b) un cebador oligonucleótido PCR o un par de cebadores oligonucleótidos PCR seleccionado del grupo de par de  
 cebadores 7 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 13 y un cebador en sentido inverso  
 de la SEC ID N° 14, que identifican el locus marcador 7; par de cebadores 8 representados por un cebador en  
 sentido directo de la SEC ID N° 15 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 16, que identifican el locus  
 25 marcador 8; par de cebadores 9 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 17 y un cebador  
 en sentido inverso de la SEC ID N° 18, que identifican el locus marcador 9; par de cebadores 10 representados por  
 un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 19 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 20, que  
 identifican el locus marcador 10; par de cebadores 11 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID  
 N° 21 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 22, que identifican el locus marcador 11; par de cebadores  
 30 12 representados por un cebador en sentido directo de la SEC ID N° 23 y un cebador en sentido inverso de la SEC  
 ID N° 24, que identifican el locus marcador 12 y par de cebadores 13 representados por un cebador en sentido  
 directo de la SEC ID N° 25 y un cebador en sentido inverso de la SEC ID N° 26, que identifican el locus marcador 13  
 o cualquier otro cebador o par de cebadores que identifique un locus marcador en el cromosoma 5 que está  
 correlacionado estadísticamente con el rasgo de resistencia a *Bemisia*.

35 11. Una planta de *Capsicum annuum* cultivada que comprende un genoma que comprende al menos un QTL que  
 contribuye a la resistencia a *Bemisia*, QTL que está situado en el cromosoma 3, en la que dicho al menos un QTL se  
 puede identificar por un marcador molecular que está en desequilibrio de unión y/o unido a y/o situado en la región  
 QTL, así como un marcador que representa las mutaciones causales reales subyacentes al QTL y así presenta  
 correlación estadística con el rasgo fenotípico, marcador que se puede desarrollar usando los cebadores  
 40 oligonucleótidos como se desvela en la SEC ID N° 1-12.

12. Una planta de *Capsicum annuum* cultivada que comprende un genoma que comprende dos QTL que  
 contribuyen a la resistencia a *Bemisia*, QTL que se sitúan en el cromosoma 3 y 5, en la que dichos dos QTL se  
 pueden identificar por marcadores moleculares que están en desequilibrio de unión y/o unidos a y/o situados en la  
 región QTL, así como un marcador que representa las mutaciones causales reales subyacentes al QTL y así  
 45 presenta correlación estadística con el rasgo fenotípico, marcador que se puede desarrollar usando los cebadores  
 oligonucleótidos como se desvela en la SEC ID N° 1-12 y las SEC ID Nos. 13 a 26, respectivamente.