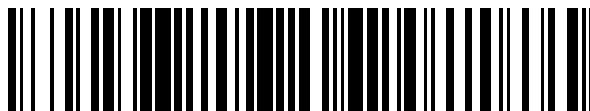


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 691 593**

21 Número de solicitud: 201890033

51 Int. Cl.:

C12N 15/09 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A2

22 Fecha de presentación:

31.05.2016

30 Prioridad:

13.11.2015 JP 2015-222794

43 Fecha de publicación de la solicitud:

27.11.2018

71 Solicitantes:

**TAKII & COMPANY LIMITED (100.0%)
180, MINAMIEBISU-CHO, INOKUMA-HIGASHI-IRU,
UMEKOJI-DORI
6008686 SHIMOOGYO-KU JP**

72 Inventor/es:

**KOSUGI, Kazuo;
ARIMOTO, Ryohei;
MAEDA, Daisuke;
KANO, Akihito y
IKESUE, Ryuji**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

54 Título: **MARCADOR DE RESISTENCIA A OÍDIO PARA PLANTAS DE MELÓN, PLANTA DE MELÓN RESISTENTE A OÍDIO, Y MÉTODO PARA PRODUCIR PLANTA DE MELÓN RESISTENTE A OÍDIO USANDO DICHO MARCADOR**

57 Resumen:

Marcador de resistencia a oídio para plantas de melón, planta de melón resistente a oídio, y método para producir planta de melón resistente a oídio usando dicho marcador.

La presente invención proporciona un nuevo marcador de resistencia a oídio para plantas de melón, una planta de melón resistente a oídio que incluye un locus de resistencia a oídio; y un método para la producción de una planta de melón resistente a oídio usando el mismo. El marcador de resistencia a oídio para plantas de melón según la presente invención incluye un locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 en una forma homocigota, donde el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 cumple al menos una de las condiciones:

Condición (1): el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por una longitud de un fragmento amplificado obtenido por amplificación usando el conjunto cebador 1, y la longitud del fragmento amplificado es de 133 pb o más, donde el conjunto cebador 1 comprende un cebador directo 1 que consiste en una secuencia de bases SEQ ID NO: 1 y un cebador inverso 1 que consiste en una secuencia de bases SEQ ID NO: 2; y

Condición (2): el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por polimorfismos de bases en las posiciones 45, 48, 49, 51, 108, 120, 139, 214 y 327 en una secuencia de bases la SEQ ID NO: 3.

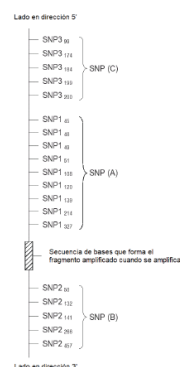


FIG. 1

ES 2 691 593 A2

DESCRIPCIÓN

MARCADOR DE RESISTENCIA A OÍDIO PARA PLANTAS DE MELÓN, PLANTA DE MELÓN RESISTENTE A OÍDIO, Y MÉTODO PARA PRODUCIR PLANTA DE MELÓN RESISTENTE A OÍDIO USANDO DICHO MARCADOR

5

Campo técnico

10 La presente descripción se refiere a un marcador de resistencia a oídio para plantas de melón, una planta de melón resistente a oídio, y un método para producir una planta de melón resistente a oídio usando el mismo.

Estado de Técnica anterior

15 En el cultivo de las plantas de melón, una enfermedad causada por hongo de oídio es un problema serio a nivel mundial. Los cuerpos vegetales infectados con el hongo de oídio crecen escasamente debido al marchitamiento de las hojas, etc. Como resultado, se reduce la producción de frutos.

20 Bajo estas circunstancias, se han realizado intentos para criar cultivares de melón resistentes al hongo de oídio utilizando genes de resistencia a oídio. Sin embargo, la aparición de especies de hongos de oídio capaces de infectar plantas de melón que incluyen estos genes de resistencia da lugar a un problema (Documento No Patente 1).

25 Listado de citas

Documentos No-Patente

[Documento No Patente 1] F. J. Yuste-Lisbona y col., "Inheritance of resistance to races 1, 2 and 5 of powdery mildew in the melon TGR-1551", *Plant Breeding*, 2010, vol. 129, pp. 72-75.

30 **Breve resumen de la invención**

Problema para resolver por la invención

35 Con lo anterior en mente, es un objetivo de la presente invención proporcionar un nuevo marcador de resistencia a oídio para plantas de melón, una planta de melón resistente a

oídio que incluye un locus de resistencia a oídio, y un método para producir una planta de melón resistente a oídio usando el mismo.

Medios para resolver el problema

5

Para conseguir el anterior objetivo, la presente invención proporciona un marcador de resistencia a oídio para una planta de melón, que incluye: un locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 en una forma homocigota, donde el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 cumple al menos una de las siguientes condiciones (1) y (2):

10 Condición (1): El locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por una longitud de un fragmento amplificado obtenido por amplificación usando el siguiente conjunto cebador 1, y la longitud del fragmento amplificado es de 133 pb o más.

Conjunto cebador 1:

un cebador directo 1 que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 1

15 un cebador inverso 1 que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 2

Condición (2): El locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por polimorfismos de bases en las posiciones 45, 48, 49, 51, 108, 120, 139, 214 y 327 en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 3.

20 La presente invención también proporciona una planta de melón resistente a oídio que incluye: un locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 en una forma homocigota, donde el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 cumple al menos una de las siguientes condiciones (1) y (2):

25 Condición (1): El locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por una longitud de un fragmento amplificado obtenido por amplificación usando el siguiente conjunto cebador 1, y la longitud del fragmento amplificado es de 133 pb o más.

Conjunto cebador 1:

un cebador directo 1 que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 1

un cebador inverso 1 que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 2

30 Condición (2): El locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por polimorfismos de bases en las posiciones 45, 48, 49, 51, 108, 120, 139, 214 y 327 en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 3.

35 La presente invención también proporciona un método para producir una planta de melón resistente a oídio, que incluye las siguientes etapas (a) y (b):

(a) cruzar la planta de melón resistente a oídio según la presente invención con otra planta de melón; y

(b) seleccionar una planta de melón resistente a oídio de una o más plantas de melón obtenidas en la etapa (a) o sus líneas progenie.

5

Efectos de la invención

Los inventores de la presente invención llevaron a cabo estudios diligentes, y descubrieron un nuevo locus de resistencia a oídio para plantas de melón como marcador de resistencia a oídio que presenta resistencia a oídio. Las plantas de melón que incluyen el marcador de resistencia a oídio presentan resistencia a oídio. Por tanto, el marcador de resistencia a oídio para plantas de melón según la presente invención permite fácil detección de plantas de melón resistentes a oídio, por ejemplo. También, la planta de melón resistente a oídio según la presente invención incluye el locus de resistencia a oídio, por ejemplo, y, por tanto, puede presentar resistencia a oídio, por ejemplo. Además, el locus de resistencia a oídio puede conferir la resistencia a oídio aunque sea un locus de gen único (factor monogénico), por ejemplo. Por tanto, según la planta de melón resistente a oídio de la presente invención, por ejemplo, se pueden obtener fácilmente también progenies que presentan resistencia a oídio a partir de F1 obtenida por cruzamiento de la planta de melón resistente a oídio de la presente invención con otras plantas de melón o sus progenies. Además, una planta de melón que incluye el marcador de resistencia a oídio es resistente a razas de hongo de oídio capaces de infectar plantas de melón que incluyen los genes de resistencia a oídio descritos en el documento de la técnica anterior, por ejemplo. Por tanto, la planta de melón resistente a oídio de la presente invención puede eliminar la necesidad de prevención y exterminación usando compuestos químicos agrícolas como se realiza convencionalmente, de manera que se puede evitar el problema de trabajo y coste de la pulverización de los compuestos químicos agrícolas, por ejemplo.

30

Breve descripción de los dibujos

[Fig. 1] La Figura 1 es una visión esquemática que muestra las locaciones relativas de polimorfismos de nucleótido único (SNP) y similares en el cromosoma 6.

35

[Figs. 2A a 2D] Las Figuras 2A a 2D muestra fotografías que ilustran criterios para evaluar el índice de enfermedad de las plantas de melón en el Ejemplo 1.

Modo de llevar a cabo la invención

1. Marcador de resistencia a oídio para plantas de melón

5

El marcador de resistencia a oídio para una planta de melón (también referido simplemente como “marcador de resistencia” en lo sucesivo en este documento) según la presente invención es, como se describió anteriormente, un marcador de resistencia a oídio para una planta de melón, que incluye: un locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 en una forma homocigota, donde el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 cumple al menos una de las siguientes condiciones (1) y (2):

10

Condición (1): El locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por una longitud de un fragmento amplificado obtenido por amplificación usando el siguiente conjunto cebador 1, y la longitud del fragmento amplificado es de 133 pb o más.

15

Conjunto cebador 1:

un cebador directo 1 que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 1

un cebador inverso 1 que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 2

20

Condición (2): El locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por polimorfismos de bases en las posiciones 45, 48, 49, 51, 108, 120, 139, 214 y 327 en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 3.

El marcador de resistencia a oídio de la presente invención se caracteriza por que incluye un locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 en una forma homocigota y que el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 cumple al menos una de las condiciones (1) y (2).

25

Otras configuraciones o condiciones no están particularmente limitadas.

En la presente invención, las “plantas de melón” son plantas clasificadas en *Cucumis melo* del género *Cucumis*.

30

En la presente invención, los ejemplos del patógeno de oídio incluyen *Sphaerotheca fuliginea* (también denominado “*Podosphaera xanthii*”) y *Erysiphe polygoni*.

35

En la presente invención, el término “resistencia a oídio” también puede ser referido como “tolerancia a oídio”, por ejemplo. La resistencia significa la capacidad de inhibir o suprimir la

ocurrencia y la progresión de daño debido a la infección con el patógeno de oídio, por ejemplo. Específicamente, la resistencia puede significar cualquiera de lo siguiente, por ejemplo: prevenir de que ocurra el daño; parar la progresión del daño que ya ha ocurrido; y suprimir (también referido como “inhibir”) la progresión del daño que ya ha ocurrido.

5

En la presente invención, el “cromosoma” también puede ser referido como “grupo de ligamiento”, por ejemplo. Por tanto, en la presente invención, los cromosomas 1 a 12 de una planta de melón también pueden ser referidos como, por ejemplo, grupos de ligamiento 1 a 12, respectivamente, y el cromosoma 6 también puede ser referido como, por ejemplo, grupo de ligamiento 6. Los grupos de ligamiento se pueden determinar basándose en la información de secuencia del genoma en las plantas de melón con referencia al siguiente Documento de Referencia 1, por ejemplo. La información de secuencia del genoma en las plantas de melón está disponible en la página de internet (<https://melonomics.net/>) de MELONOMICS Project, por ejemplo. Específicamente, el cromosoma 6 (grupo de ligamiento 6) en la presente invención se puede determinar basándose en un trozo de la información de secuencia del genoma, Melon_genome_v3.5.1, en las plantas de melón descrita en la página de internet de MELONOMICS Project con referencia al siguiente Documento de Referencia 1, por ejemplo.

10

Documento de Referencia 1: Jason M. Argyris y col., “Use of targeted SNP selection for an improved anchoring of the melon (*Cucumis melo L.*) scaffold genome assembly”, *BMC Genomics*, 2015 vol. 16:4.

20

Aunque el marcador de resistencia de la presente invención incluye el locus de resistencia en el cromosoma 6 en una forma homocigota como se describió anteriormente, la planta de melón resistente a oídio puede incluir el locus de resistencia en el cromosoma 6, en lugar de en el cromosoma 6, en cualquier cromosoma distinto del cromosoma 6, por ejemplo. Es decir, la planta de melón resistente a oídio puede incluir el locus de resistencia en el cromosoma 6 en cualquiera del cromosoma 1, cromosoma 2, cromosoma 3, cromosoma 4, cromosoma 5, cromosoma 7, cromosoma 8, cromosoma 9, cromosoma 10, cromosoma 11 y cromosoma 12. Cuando la planta de melón resistente a oídio incluye el marcador de resistencia en cualquier cromosoma distinto del cromosoma 6, la planta de melón resistente a oídio puede incluir un locus de resistencia en un cromosoma distinto del cromosoma 6 o dos loci de resistencia en un cromosoma(s) distinto(s) del cromosoma 6, por ejemplo. En el último caso, la planta de melón resistente a oídio puede incluir los dos loci de resistencia en

35

el mismo cromosoma o en cromosomas diferentes, por ejemplo.

El locus de resistencia a oídio se refiere a un locus de rasgo cuantitativo o una región de gen que confiere la resistencia a oídio. En general, el locus de un carácter cuantitativo (QTL) se refiere a una región de cromosoma que está implicada en la expresión de un carácter cuantitativo. El QTL se puede especificar usando un marcador molecular que indica un locus específico en un cromosoma. La técnica para especificar el QTL usando el marcador molecular es bien conocida en la técnica.

10 En la presente invención, un marcador molecular usado para especificar (también referido como “identificar” en lo sucesivo en este documento) el locus de resistencia a oídio no está particularmente limitado. Ejemplos del marcador molecular incluyen marcadores SNP, marcadores de polimorfismo de la longitud de fragmento amplificado (AFLP), marcadores de polimorfismo de la longitud de fragmento de restricción (RFLP), marcadores microsátélites, 15 marcadores de región amplificada caracterizada por secuencia (SCAR) y marcadores de secuencia polimórfica amplificada cortada (CAPS). Ejemplos de los marcadores microsátélites incluyen marcadores de repetición en tándem corta (STR) y marcadores de repetición de secuencia simple (SSR). El locus de resistencia se puede identificar por un tipo de marcador o por dos o más tipos de marcadores, por ejemplo.

20 En la presente invención, se puede usar un marcador SNP, o se pueden usar dos o más marcadores SNP en combinación, por ejemplo.

En la presente invención, el locus de resistencia cumple: (i) una condición basada en al menos una de la longitud de cada uno de los fragmentos amplificados obtenidos por 25 amplificación usando el conjunto cebador y la combinación de polimorfismos (también referido como “SNP” en lo sucesivo en este documento) de bases. Es decir, el locus de resistencia cumple al menos una de las condiciones (1) y (2), descritas anteriormente. Además, el locus de resistencia puede cumplir, por ejemplo: (ii) una condición basada en al menos una de la secuencia de bases de cada uno de los fragmentos amplificados obtenidos 30 por amplificación usando el conjunto cebador y una secuencia de bases que incluye la combinación de SNP; (iii) una condición basada en la secuencia de bases de una región que incluye al menos una de la secuencia de bases de cada uno de los fragmentos amplificados obtenidos por amplificación usando el conjunto cebador y una secuencia de bases que 35 incluye la combinación de SNP; o cualquier combinación de (i) a (iii), como se describirán

más adelante. Cuando el locus de resistencia cumple cualquier combinación de (i) a (iii), la combinación no está particularmente limitada, y sus ejemplos incluyen las siguientes combinaciones. Aunque el locus de resistencia cumple (i), la presente invención no se limita a la misma. Por ejemplo, en lugar de (i), el locus de resistencia puede cumplir (ii) o (iii), o puede cumplir la combinación de (ii) y (iii).

Combinación de (i) y (ii)

Combinación de (i) y (iii)

Combinación de (i), (ii) y (iii)

10 (i) Condición basada en la longitud del fragmento amplificado y la combinación de SNP

Como se describió en el anterior punto (i), el locus de resistencia cumple la condición basada en al menos una de la longitud de cada uno de los fragmentos amplificados obtenidos por amplificación usando el conjunto cebador y la combinación de SNP, y específicamente, el locus de resistencia cumple al menos una de las condiciones (1) y (2). En la siguiente descripción, los SNP en las respectivas condiciones están recién identificados por los inventores de la presente invención, y los expertos en la técnica pueden identificar las localizaciones cromosómicas de estos SNP basándose en las secuencias de bases que incluyen estos SNP a describir más adelante.

20

En la condición (1), el locus de resistencia se identifica por la longitud de cada uno de los fragmentos amplificados obtenidos por amplificación usando el siguiente conjunto cebador 1. La longitud del fragmento amplificado se puede medir, por ejemplo, amplificando el gen de una planta de melón usando el siguiente conjunto cebador 1 y analizando el fragmento amplificado resultante. El análisis del fragmento amplificado se puede secuenciar del fragmento amplificado o análisis por electroforesis o similares, por ejemplo. El siguiente conjunto cebador 1 amplifica, por ejemplo, la secuencia de bases desde las posiciones 5857028 a 5857159 en el cromosoma 6 en la información de secuencia del genoma anteriormente descrita en las plantas de melón.

30

Conjunto cebador 1

un cebador directo 1: 5'-AATCTCAACAAGTGAGCTTTTATTGT-3' (SEQ ID NO: 1)

un cebador inverso 1: 5'-CATGATTATCTTCAATTTTCTTTTGTGTC-3' (SEQ ID NO: 2)

35 La longitud del fragmento amplificado puede ser de 133 pb o más, y su límite superior no

está particularmente limitado. El límite superior de la longitud del fragmento amplificado puede ser, por ejemplo, de 140 pb o menos o 135 pb o menos, y el intervalo de la longitud del fragmento amplificado puede ser, por ejemplo, de 133 pb a 140 pb o de 133 pb a 135 pb. Preferiblemente, la longitud del fragmento amplificado es de 133 pb. Hasta ahora no se ha informado de la relevancia de la longitud del fragmento amplificado obtenido por

- 5
10
15
20
- En la condición (2), el locus de resistencia se identifica por la combinación de nueve tipos de SNP (también referida como “primer conjunto de SNP”, en lo sucesivo en este documento) en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 3 mostrada más adelante. Los nueve tipos de SNP son los SNP en las posiciones 45, 48, 49, 51, 108, 120, 139, 214 y 327 en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 3. En lo sucesivo en este documento, los SNP en las posiciones 45, 48, 49, 51, 108, 120, 139, 214 y 327 también son referidos como “SNP₁₄₅”, “SNP₁₄₈”, “SNP₁₄₉”, “SNP₁₅₁”, “SNP₁₁₀₈”, “SNP₁₁₂₀”, “SNP₁₁₃₉”, “SNP₁₂₁₄” y “SNP₁₃₂₇”, respectivamente. SNP₁₄₅, SNP₁₄₈, SNP₁₄₉, SNP₁₅₁, SNP₁₁₀₈, SNP₁₁₂₀, SNP₁₁₃₉, SNP₁₂₁₄ y SNP₁₃₂₇ son la 1ª a 9ª base subrayada entre corchetes en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 3, respectivamente. La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 3 se puede obtener de la planta de melón depositada bajo el N.º de Acceso FERM BP-22291 a describir más adelante, por ejemplo. La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 3 corresponde a, por ejemplo, la secuencia de bases desde las posiciones 5586975 a 5587541 en el cromosoma 6 en la información de secuencia del genoma en las plantas de melón.

25 SEQ ID NO: 3

```
5' -GGAAAAATGCAGGGGAAGGCGAAGAGCAGCCTTCGGAGAGGAAA [A] AA [A] [I] T [I] TTTTGGTTGAACATAACAT
ACTATTGGTAGTTGGAATTCCAAGTATGAGCACAGAT [I] GAAAGGCATTT [A] TTTGCAAGTCACTTCCTC [A] TCCTCCT
CGAAGTCTTTGCTTTCACCCTATTGCAGATTCTATGCCACTGAAATTCTCTGT [AAAAGCTCCA] [I] CTCCAACCTCGT
CCTCTGCTGCTCTTTCTTTTCTTCTCTCTCTTCTTAGCCAAATCTAGGTCAAAGGCTAAGTCTAAAAACCATCCAAAAT
CAAGGATTCTCTCACATC [C] TCTGGGTTTCACCTGTTTGTAAATTCGTTTGTACTTTTGTATGATTACTCTTTTCGCT
CTAAGTATAATTCTCATGTACTTTGAGCATTAGTCTCTTTTGTAAATACATTTAAAGAGGCTCGTATCAATGTTTGGTGCTG
ACCTCCAAGGAAATATCCAACAACTTTTAGTTGAGGTGCACTTAAAAATATTTCCCTCAATCACTTTGGATACATGCGGTTA
AGTCGCTTTTGGCAG-3'
```

El primer conjunto de SNP indica polimorfismos de modo que, por ejemplo, la 1ª a 9ª base subrayada entre corchetes en la SEQ ID NO: 3 son are A, A, T, T, T, A, A, T y C,

respectivamente. Es decir, por ejemplo, una planta de melón es resistente a oídio cuando SNP₁₄₅, SNP₁₄₈, SNP₁₄₉, SNP₁₅₁, SNP₁₀₈, SNP₁₂₀, SNP₁₃₉, SNP₂₁₄ y SNP₃₂₇ en el primer conjunto de SNP son A, A, T, T, T, A, A, T y C, respectivamente, y es susceptible a oídio cuando la combinación de las bases es distinta de la combinación anterior (por ejemplo, cuando son A, T, T, T, T, A, G y T o cuando son G, A, A, A, G, C, A, C y T). Hasta ahora no se ha informado de la relevancia del primer conjunto de SNP con la resistencia a oídio. El primer conjunto de SNP es una nueva combinación de SNP descubierta primero por los inventores de la presente invención como implicada en la resistencia a oídio.

10 En la condición (2), el locus de resistencia además se puede identificar, por ejemplo, por la secuencia de bases desde las posiciones 204 a 213 (SEQ ID NO: 7: 5'-AAAAGCTCCA-3') en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 3. La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 7 es la secuencia de bases recuadrada en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 3. Es decir, por ejemplo, una planta de melón es resistente a oídio cuando el primer conjunto de

15 SNP anteriormente descrito incluye la combinación de las bases que presentan la resistencia a oídio, y también, la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 7 está incluida en una secuencia de bases que corresponde a la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 3, y es susceptible a oídio cuando la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 7 no está incluida. Hasta ahora no se ha informado de la relevancia de la secuencia de bases de la SEQ ID

20 NO: 7 con la resistencia a oídio. La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 7 es una nueva secuencia de bases descubierta primero por los inventores de la presente invención como implicada en la resistencia a oídio.

En la presente invención, el locus de resistencia puede cumplir una de las condiciones (1) y

25 (2) o ambas condiciones (1) y (2), por ejemplo. Preferiblemente, el locus de resistencia cumple ambas condiciones (1) y (2) debido a que el locus de resistencia muestra mayor correlación con la resistencia a oídio.

El locus de resistencia además puede cumplir, como la condición basada en la combinación

30 de SNP, al menos una de las siguientes condiciones (3) y (4), por ejemplo.

Condición (3): El locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por los polimorfismos de las bases en las posiciones 50, 141 y 266 en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 4.

35

SEQ ID NO: 4

5' -AGGAAACGAAGAATAGACGAAATGTCAAGGTTGCTATTCTAATACCATG[C]TTCCCAAGTCAGACCAGCTTCATTCC
 AGCATATGGTATCAAGAGATTCTATTGACGTGACTTCTAATGTCTCTTCCACACC[T]ACTCCAGA[A]ATTCCCAATTTTCAT
 TTAGATTAACATTTTACAGTGAATCAATCCCACCAACCCAGTCATTTATAATCTGCTAATTTCTGGACTGTGCAACGACAA
 ATCCTGCACAGACAAGGCCTACGATAG[T]TTGTGCAACCAGACTCCTGACATGAATATCCATTCTCCATTATTGCTGAGA
 TTCATCTCGTATATACTTAATCCAACCTTTCTACATTGCCAAAAATTTCTGGCCTACAAAGCAAATATGACCCTAAACTTGA
 AGAAACCAATATTGTAAGCTTTAACTCAACATATGAGGAGATATTTTTATGCCA[A]ACATAATCAAGAAAAGATAAGCTTC
 TCTTTCCGGTTCTCA-3'

- 5 Condición (4): El locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por los polimorfismos de las bases en las posiciones 99, 174, 184, 199 y 200 en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 5.

SEQ ID NO: 5

10 5'-
 GTTCGGATCGGAAAATTCAATCAAAGGAATAAGCGCTACAAAACAATAAACACACACATA
 CATCCAAAATTACAAATCTCCTATCATCATCAAGAAA[C]AGAAAAACCAAACCGAAAAC
 GAAATAAACGCCAAATAATTTAGAAAATCGATGCGACGGAATAAGAAATGCAT[G]TATC
 TGGTA[T]GATCGAAAGAGAAA[A][T]ATACGAGATCCGGTGGTTTGCCAGAGCTGCATCTC
 15 GCCGTCTTCATAATCGCCTTCGGGACGAACGGCGATGAGAACAAGGTAATCGCCCTTG
 CGGACAACGTTGTGATGGCCCATTTGAGGGCTTTAATGCTGCAGGCAGAGAAATCCA
 CCGCGACGCCGACTCTCCGTTGACCGTCCATGCTTTTTGTGGGTTGGGATTTTCAGTGC
 GTTTGAGCTTTGTGGAAGGAAGGAAGAATGGAATGAATGTCGGAAAGCTTGG-3'

- 20 En la condición (3), el locus de resistencia se identifica, por ejemplo, por la combinación de tres tipos de SNP (también referida como “segundo conjunto de SNP” en lo sucesivo en este documento) en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 4. Los tres tipos de SNP son, por ejemplo, los SNP en las posiciones 50, 141 y 266 en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 4. En lo sucesivo en este documento, los SNP en las posiciones 50, 141 y 266 también
 25 son referidos como “SNP₂₅₀”, “SNP₂₁₄₁” y “SNP₂₂₆₆”, respectivamente. SNP₂₅₀, SNP₂₁₄₁ y SNP₂₂₆₆ son la 1ª a 3ª base subrayada entre corchetes en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 4, respectivamente. La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 4 se pueden obtener a partir de la planta de melón depositada bajo el N.º de Acceso FERM BP-22291 a describir más adelante, por ejemplo. La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 4 corresponde a, por

ejemplo, la secuencia de bases desde las posiciones 6398131 a 6398627 en el cromosoma 6 en la información de secuencia del genoma anteriormente descrita en las plantas de melón.

5 El segundo conjunto de SNP indica polimorfismos de modo que, por ejemplo, la 1ª a 3ª base subrayada entre corchetes en la SEQ ID NO: 4 son C, A y T respectivamente. Es decir, por ejemplo, una planta de melón es resistente a oídio cuando SNP₂₅₀, SNP₂₁₄₁ y SNP₂₂₆₆ en el segundo conjunto de SNP son C, A y T, respectivamente, y es susceptible a oídio cuando la combinación de las bases es distinta de la anterior combinación (por ejemplo, cuando son T,
10 T y A). Hasta ahora no se ha informado de la relevancia del segundo conjunto de SNP con la resistencia a oídio. El segundo conjunto de SNP es una nueva combinación de SNP descubierta primero por los inventores de la presente invención como implicada en la resistencia a oídio.

15 En la condición (3), el locus de resistencia además se puede identificar, por ejemplo, por la combinación de SNP en las posiciones 132 y 457 en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 4. En lo sucesivo en este documento, los SNP en las posiciones 132 y 457 también son referidos como “SNP₂₁₃₂” y “SNP₂₄₅₇”, respectivamente. SNP₂₁₃₂ y SNP₂₄₅₇ son la 1ª y 2ª base recuadrada en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 4, respectivamente.

20 SNP₂₁₃₂ y SNP₂₄₅₇ son polimorfismos de modo que, por ejemplo, la 1ª y 2ª base recuadrada subrayada en la SEQ ID NO: 4 son T y A, respectivamente. Es decir, por ejemplo, una planta de melón es resistente a oídio cuando el segundo conjunto de SNP anteriormente descrito incluye la combinación de las bases que presentan la resistencia a oídio, y también,
25 SNP₂₁₃₂ y SNP₂₄₅₇ son T y A, respectivamente, y es susceptible a oídio cuando la combinación de las bases es distinta de la anterior combinación. Hasta ahora no se ha informado de la relevancia de SNP₂₁₃₂ y SNP₂₄₅₇ con la resistencia a oídio. La combinación de SNP₂₁₃₂ y SNP₂₄₅₇ es una nueva combinación de SNP descubierta primero por los inventores de la presente invención como implicada en la resistencia a oídio.

30 En la condición (4), el locus de resistencia se identifica, por ejemplo, por la combinación de cinco tipos de SNP (también referida como “tercer conjunto de SNP” en lo sucesivo en este documento) en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 5. Los cinco tipos de SNP son, por ejemplo, SNP en las posiciones 99, 174, 184, 199 y 200 en la secuencia de bases de la
35 SEQ ID NO: 5. En lo sucesivo en este documento, los SNP en las posiciones 99, 174, 184,

199, y 200 también son referidos como “SNP3₉₉”, “SNP3₁₇₄”, “SNP3₁₈₄”, “SNP3₁₉₉”, y “SNP3₂₀₀”, respectivamente. SNP3₉₉, SNP3₁₇₄, SNP3₁₈₄, SNP3₁₉₉, y SNP3₂₀₀ son la 1^a a 5^a base subrayada entre corchetes en la secuencia de bases la SEQ ID NO: 5, respectivamente. La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 5 se puede obtener a partir de la

5

planta de melón depositada bajo el N.º de Acceso FERM BP-22291 a describir más adelante, por ejemplo. La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 5 corresponde a, por ejemplo, la secuencia de bases desde las posiciones 5269642 a 5270103 en el cromosoma 6 en la información de secuencia del genoma anteriormente descrita en las plantas de melón.

10

El tercer conjunto de SNP indica polimorfismos de modo que, por ejemplo, la 1^a a 5^a base subrayada entre corchetes en la SEQ ID NO: 5 son C, G, T, A, y T, respectivamente. Es decir, por ejemplo, una planta de melón es resistente a oídio cuando SNP3₉₉, SNP3₁₇₄, SNP3₁₈₄, SNP3₁₉₉, y SNP3₂₀₀ en el tercer conjunto de SNP son C, G, T, A y T, respectivamente, y es susceptible a oídio cuando la combinación de las bases es distinta a la anterior combinación (por ejemplo, cuando son T, A, C, T y C). Hasta ahora no se ha informado de la relevancia del tercer conjunto de SNP con la resistencia a oídio. El tercer conjunto de SNP es una nueva combinación de SNP descubierta primero por los inventores de la presente invención como implicada en la resistencia a oídio.

15

20

Cuando el locus de resistencia cumple además al menos una de las condiciones (3) y (4), la combinación de las condiciones cumplidas por el locus de resistencia no está particularmente limitada, y sus ejemplos incluyen las siguientes combinaciones:

Combinación de las condiciones (1) y (3)

25

Combinación de las condiciones (1) y (4)

Combinación de las condiciones (2) y (3)

Combinación de las condiciones (2) y (4)

Combinación de las condiciones (1), (2) y (3)

Combinación de las condiciones (1), (2) y (4)

30

Combinación de las condiciones (1), (2), (3) y (4)

Aunque que el locus de resistencia cumple al menos una de las condiciones (1) y (2) en la presente invención, el locus de resistencia no se limita a la misma. El locus de resistencia puede cumplir al menos una de las condiciones (3) y (4), en lugar de al menos una de las

35

condiciones (1) y (2). En este caso, el locus de resistencia puede cumplir una de las

condiciones (3) y (4) o ambas condiciones (3) y (4), por ejemplo. Preferiblemente, el locus de resistencia cumple ambas condiciones (3) y (4) debido a que el locus de resistencia muestra mayor correlación con la resistencia a oídio.

5 (ii) Condición basada en la(s) secuencia(s) de bases

Como se describió en el anterior punto (ii), el locus de resistencia puede cumplir, por ejemplo, una condición basada en al menos una de la secuencia de bases de cada uno de los fragmentos amplificados obtenidos por amplificación usando el conjunto cebador y una
 10 secuencia de bases que incluye la combinación de SNP y específicamente, el locus de resistencia puede cumplir al menos una de las siguientes condiciones (5) y (6). En la siguiente condición (5), los siguientes polinucleótidos (a2) y (a3) son polinucleótidos que tienen cada uno una función equivalente a la del siguiente polinucleótido (a1) con respecto a la resistencia a oídio en el locus de resistencia. En la siguiente condición (6), los siguientes
 15 polinucleótidos (b2) y (b3) son polinucleótidos que tienen cada uno una función equivalente a la del siguiente polinucleótido (b1) con respecto a la resistencia a oídio en el locus de resistencia.

Condición (5): El locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por el siguiente
 20 polinucleótido (a). Dicho polinucleótido (a) se selecciona del grupo que consiste en (a1), (a2) y (a3), donde

el polinucleótido (a1) es un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 6;

25 el polinucleótido (a2) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases obtenida por delección, sustitución, inserción y/o adición de una o más bases en la secuencia de bases del polinucleótido (a1); y

el polinucleótido (a3) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia a la secuencia de bases del polinucleótido (a1).

30 Condición (6): El locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por el siguiente polinucleótido (b). Dicho polinucleótido (b) se selecciona del grupo que consiste en (b1), (b2) y (b3), donde

35 el polinucleótido (b1) es un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 3;

el polinucleótido (b2) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases obtenida por delección, sustitución, inserción y/o adición de una o más bases en la secuencia de bases del polinucleótido (b1) con la base (A) en la posición 45, la base (A) en la posición 48, la base (T) en la posición 49, la base (T) en la posición 51, la base (T) en la posición 108, la base (A) en la posición 120, la base (A) en la posición 139, la base (T) en la posición 214, y la base (C) en la posición 327 en la secuencia de bases del polinucleótido (b1) que se conserva; y

el polinucleótido (b3) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia a la secuencia de bases del polinucleótido (b1) con la base (A) en la posición 45, la base (A) en la posición 48, la base (T) en la posición 49, la base (T) en la posición 51, la base (T) en la posición 108, la base (A) en la posición 120, la base (A) en la posición 139, la base (T) en la posición 214, y la base (C) en la posición 327 en la secuencia de bases del polinucleótido (b1) que se conserva.

En el polinucleótido (a1), la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 6 es como se muestra más adelante. El polinucleótido (a1) que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 6, se obtiene, por ejemplo, amplificando el gen de una planta de melón usando el conjunto cebador 1, por ejemplo. La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 6 es, por ejemplo, la secuencia de bases del fragmento amplificado que incluye el cebador directo 1. El polinucleótido (a1) se puede obtener a partir de la planta de melón depositada bajo el N.º de Acceso FERM BP-22291 a describir más adelante, por ejemplo.

SEQ ID NO: 6

5'-

AATCTCAACAAGTGAGCTTTTATTGTAAAAATACAACACAAGTAAGAGTGTGTGTATTTA
TAATTGAAAGAAGAAGAAGAAGAAGAAGAAGAAGAAAACAAGACAAAAGAAAATT
GAAGATAATCATG-3'

En el polinucleótido (a2), el número de la “una o más” bases es, por ejemplo, 1 a 27, 1 a 20, 1 a 15, 1 a 7, 1 a 5, 1 a 4, 1 a 3, 1, o 2. En la presente invención, el intervalo numérico con respecto al número de bases describe todos los números enteros positivos que caen dentro de ese intervalo, por ejemplo. Es decir, por ejemplo, la descripción “una a cinco bases” divulga todo “uno, dos, tres, cuatro y cinco bases” (lo mismo se aplica en lo sucesivo en este documento).

En el polinucleótido (a3), la “identidad de secuencia” es, por ejemplo, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 89 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 %. La “identidad de secuencia” se puede determinar
5 alineando dos secuencias de bases (lo mismo se aplica en lo sucesivo en este documento).

En el polinucleótido (b1), la 1ª a 9ª base subrayada entre corchetes en la SEQ ID NO: 3 son bases que corresponden a los polimorfismos de SNP1₄₅, SNP1₄₈, SNP1₄₉, SNP1₅₁, SNP1₁₀₈,
10 SNP1₁₂₀, SNP1₁₃₉, SNP1₂₁₄ y SNP1₃₂₇, respectivamente. El polinucleótido (b1) se puede obtener a partir de la planta de melón depositada bajo el N.º de Acceso FERM BP-22291 a describir más adelante, por ejemplo.

En el polinucleótido (b2), el número de la “una o más” bases es, por ejemplo, 1 a 112, 1 a 84, 1 a 62, 1 a 56, 1 a 28, 1 a 23, 1 a 17, 1 a 12, 1 a 6, 1 a 3, 1, o 2.

15 En el polinucleótido (b2), además se puede conservar la secuencia de bases desde las posiciones 204 a 213 (SEQ ID NO: 7: 5'-AAAAGCTCCA-3') en la secuencia de bases del polinucleótido (b1), por ejemplo. En este caso, el polinucleótido (b2) es, por ejemplo, un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases obtenida por delección, sustitución,
20 inserción y/o adición de una o más bases en la secuencia de bases del polinucleótido (b1) con la base (A) en la posición 45, la base (A) en la posición 48, la base (T) en la posición 49, la base (T) en la posición 51, la base (T) en la posición 108, la base (A) en la posición 120, la base (A) en la posición 139, la base (T) en la posición 214, la base (C) en la posición 327, y la secuencia de bases desde las posiciones 204 a 213 (5'-AAAAGCTCCA-3') en la
25 secuencia de bases del polinucleótido (b1) que se conserva.

En el polinucleótido (b3), la “identidad de secuencia” es, por ejemplo, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 89 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 %.

30 En el polinucleótido (b3), además se puede conservar la secuencia de bases desde las posiciones 204 a 213 (SEQ ID NO: 7: 5'-AAAAGCTCCA-3') en la secuencia de bases del polinucleótido (b1), por ejemplo. En este caso, el polinucleótido (b3) es, por ejemplo, un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos 80 % de
35 identidad de secuencia a la secuencia de bases del polinucleótido (b1) con la base (A) en la

posición 45, la base (A) en la posición 48, la base (T) en la posición 49, la base (T) en la posición 51, la base (T) en la posición 108, la base (A) en la posición 120, la base (A) en la posición 139, la base (T) en la posición 214, la base (C) en la posición 327, y la secuencia de bases desde las posiciones 204 a 213 (5'-AAAAGCTCCA-3') en la secuencia de bases del polinucleótido (b1) que se conserva.

5
10 Cuando el locus de resistencia cumple al menos una de las condiciones (5) y (6), el locus de resistencia puede cumplir una de las condiciones (5) y (6) o ambas condiciones (5) y (6), por ejemplo. Preferiblemente, el locus de resistencia cumple ambas condiciones (5) y (6) debido a que el locus de resistencia muestra mayor correlación con la resistencia a oídio.

15 El locus de resistencia además puede cumplir, como la condición basada en una secuencia(s) de bases, al menos una de las siguientes condiciones (7) y (8), por ejemplo. En la siguiente condición (7), los siguientes polinucleótidos (c2) y (c3) son polinucleótidos que tienen cada uno una función equivalente al del siguiente polinucleótido (c1) con respecto a la resistencia a oídio en el locus de resistencia. En la siguiente condición (8), los siguientes polinucleótidos (d2) y (d3) son polinucleótidos que tienen cada uno una función equivalente a la del siguiente polinucleótido (d1) con respecto a la resistencia a oídio en el locus de resistencia.

20 Condición (7): El locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por el siguiente polinucleótido (c). Dicho polinucleótido (c) se selecciona del grupo que consiste en (c1), (c2) y (c3), donde

25 el polinucleótido (c1) es un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 4;

30 el polinucleótido (c2) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases obtenida por delección, sustitución, inserción y/o adición de una o más bases en la secuencia de bases del polinucleótido (c1) con la base (C) en la posición 50, la base (A) en la posición 141, y la base (T) en la posición 266 en la secuencia de bases del polinucleótido (c1) que se conserva; y

35 el polinucleótido (c3) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia a la secuencia de bases del polinucleótido (c1) con la base (C) en la posición 50, la base (A) en la posición 141, y la base (T) en la posición 266 en la secuencia de bases del polinucleótido (c1) que se conserva.

Condición (8): El locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por el siguiente polinucleótido (d). Dicho polinucleótido (d) se selecciona del grupo que consiste en (d1), (d2) y (d3), donde

5 el polinucleótido (d1) es un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 5,

10 el polinucleótido (d2) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases obtenida por delección, sustitución, inserción y/o adición de una o más bases en la secuencia de bases del polinucleótido (d1) con la base (C) en la posición 99, la base (G) en la posición 174, la base (T) en la posición 184, la base (A) en la posición 199, y la base (T) en la posición 200 en la secuencia de bases del polinucleótido (d1) que se conserva, y

15 el polinucleótido (d3) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia a la secuencia de bases del polinucleótido (d1) con la base (C) en la posición 99, la base (G) en la posición 174, la base (T) en la posición 184, la base (A) en la posición 199, y la base (T) en la posición 200 en la secuencia de bases del polinucleótido (d1) que se conserva.

20 En el polinucleótido (c1), la 1ª a 3ª base subrayada entre corchetes en la SEQ ID NO: 4 son bases que corresponden a los polimorfismos de SNP₂₅₀, SNP₂₁₄₁ y SNP₂₂₆₆, respectivamente. El polinucleótido (c1) se puede obtener a partir de la planta de melón depositada bajo el N.º de Acceso FERM BP-22291 a describir más adelante, por ejemplo.

25 En el polinucleótido (c2), el número de la “una o más” bases es, por ejemplo, 1 a 100, 1 a 75, 1 a 55, 1 a 50, 1 a 25, 1 a 20, 1 a 15, 1 a 10, 1 a 5, 1 a 3, 1, o 2.

30 En el polinucleótido (c2), por ejemplo, además se puede conservar la base (T) en la posición 132 y la base (A) en la posición 457 en el polinucleótido (c1). En este caso, el polinucleótido (c2) es, por ejemplo, un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases obtenida por delección, sustitución, inserción y/o adición de una o más bases en la secuencia de bases del polinucleótido (c1) con la base (C) en la posición 50, la base (T) en la posición 132, la base (A) en la posición 141, la base (T) en la posición 266, y la base (A) en la posición 457 en la secuencia de bases del polinucleótido (c1) que se conserva.

35 En el polinucleótido (c3), la “identidad de secuencia” es, por ejemplo, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 89 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97

%, al menos 98 % o al menos 99 %.

5 En el polinucleótido (c3), por ejemplo, además se puede conservar la base (T) en la posición 132 y la base (A) en la posición 457 en el polinucleótido (c1). En este caso, el polinucleótido (c3) es, por ejemplo, un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia a la secuencia de bases del polinucleótido (c1) con la base (C) en la posición 50, la base (T) en la posición 132, la base (A) en la posición 141, la base (T) en la posición 266, y la base (A) en la posición 457 en la secuencia de bases del polinucleótido (c1) que se conserva.

10

En el polinucleótido (d1), la 1ª a 5ª base subrayada entre corchetes en la SEQ ID NO: 5 son bases que corresponden a los polimorfismos de SNP3₉₉, SNP3₁₇₄, SNP3₁₈₄, SNP3₁₉₉ y SNP3₂₀₀, respectivamente. El polinucleótido (d1) se puede obtener a partir de la planta de melón depositada bajo el N.º de Acceso FERM BP-22291 a describir más adelante, por ejemplo.

15

En el polinucleótido (d2), el número de la “una o más” bases es, por ejemplo, 1 a 93, 1 a 70, 1 a 51, 1 a 48, 1 a 24, 1 a 19, 1 a 15, 1 a 10, 1 a 5, 1 a 3, 1, o 2.

20 En el polinucleótido (d3), la “identidad de secuencia” es, por ejemplo, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 89 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 %.

25 Cuando el locus de resistencia cumple además al menos una de las condiciones (7) y (8), la combinación de las condiciones cumplidas por el locus de resistencia no está particularmente limitada, y sus ejemplos incluyen las siguientes combinaciones.

Combinación de las condiciones (5) y (7)

Combinación de las condiciones (5) y (8)

Combinación de las condiciones (6) y (7)

30 Combinación de las condiciones (6) y (8)

Combinación de las condiciones (5), (6) y (7)

Combinación de las condiciones (5), (6) y (8)

Combinación de las condiciones (5), (6), (7) y (8)

35 Aunque el locus de resistencia cumple “(i) Condición basada en la longitud del fragmento

amplificado y la combinación de SNP” en la presente invención, el locus de resistencia no se limita a la misma. Como se describió anteriormente, el locus de resistencia puede cumplir “(ii) Condición basada en la(s) secuencia(s) de bases”, en lugar de “(i) Condición basada en la longitud del fragmento amplificado y la combinación de SNP”. En este caso, el locus de resistencia puede cumplir, por ejemplo, al menos una de las condiciones (7) y (8), en lugar de al menos una de las condiciones (5) y (6). También, en este caso, el locus de resistencia puede cumplir una de las condiciones (7) y (8) o ambas condiciones (7) y (8), por ejemplo. Preferiblemente, el locus de resistencia cumple ambas condiciones (7) y (8) debido a que el locus de resistencia muestra mayor correlación con la resistencia a oídio.

10

(iii) Condición basada en la secuencia de bases de la región

Como se describió en el anterior punto (iii), el locus de resistencia puede cumplir, por ejemplo, la condición basada en la secuencia de bases de una región que incluye al menos una de la secuencia de bases de cada uno de los fragmentos amplificados obtenidos por amplificación usando el conjunto cebador y una secuencia de bases que incluye la combinación de SNP, y específicamente, el locus de resistencia puede cumplir la siguiente condición (9). La región puede incluir toda o parte de al menos una de la secuencia de bases del fragmento amplificado y la secuencia de bases que incluye la combinación de SNP, por ejemplo.

15

20

Condición (9): El locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por una secuencia entre los sitios de dos SNP seleccionados del grupo que consiste en el siguiente SNP (A), SNP (B), y SNP (C) en el cromosoma.

25

(A) un SNP seleccionado del grupo que consiste en los SNP en las posiciones 45, 48, 49, 51, 108, 120, 139, 214, y 327 en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 3

30

(B) un SNP seleccionado del grupo que consiste en los SNP en las posiciones 50, 132, 141, 266 y 457 en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 4

(C) un SNP seleccionado del grupo que consiste en los SNP en las posiciones 99, 174, 184, 199 y 200 en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 5.

35

Respecto al SNP (A), los SNP en las posiciones 45, 48, 49, 51, 108, 120, 139, 214 y 327

son, por ejemplo, bases que corresponden a los polimorfismos SNP₁₄₅, SNP₁₄₈, SNP₁₄₉, SNP₁₅₁, SNP₁₀₈, SNP₁₂₀, SNP₁₃₉, SNP₂₁₄ y SNP₃₂₇, respectivamente.

Respecto al SNP (B), los SNP en las posiciones 50, 132, 141, 266 y 457 son, por ejemplo,
 5 bases que corresponden a los polimorfismos de SNP₂₅₀, SNP₂₁₃₂, SNP₂₁₄₁, SNP₂₂₆₆ y SNP₂₄₅₇, respectivamente.

Respecto al SNP (C), los SNP en las posiciones 99, 174, 184, 199 y 200 son, por ejemplo,
 10 SNP₃₂₀₀, respectivamente.

El extremo del lado en dirección 5' y el extremo del lado en dirección 3' de la región se pueden identificar, por ejemplo, por los sitios de dos SNP seleccionados del grupo que consiste en los SNP (A), (B) y (C), como se describió anteriormente. La región no está
 15 limitada siempre y cuando esté localizada entre los sitios de dos SNP seleccionados del grupo que consiste en los SNP (A), (B) y (C), por ejemplo, y puede o no puede incluir ambos o uno de los sitios de los dos SNP, por ejemplo. Cuando la región incluye los sitios de los SNP, el extremo del lado en dirección 5' y el extremo del lado en dirección 3' de la región son los sitios de los SNP. Las bases en el extremo del lado en dirección 5' y el extremo del
 20 lado en dirección 3' pueden cada una ser una base subrayada o recuadrada en las anteriores secuencias de bases o pueden ser una base distinta a la base subrayada y las bases recuadradas en las anteriores secuencias de bases, por ejemplo.

Específicamente, los SNP en el extremo del lado en dirección 5' y el extremo del lado en
 25 dirección 3' se pueden determinar basándose en las localizaciones cromosómicas de los SNP (A), (B) y (C), por ejemplo. Por ejemplo, como se muestra en la Fig. 1, los SNP (A), (B) y (C) están localizados en el cromosoma 6 de una planta de melón en el orden de SNP (C), SNP (A) y SNP (B) desde el lado del lado en dirección 5' (SNP₃₉₉) hacia el lado en dirección 3' (SNP₂₄₅₇). También, como se muestra en la Fig. 1, la secuencia de bases que forma el
 30 fragmento amplificado cuando se amplifica está localizada entre SNP (A) y SNP (B), por ejemplo. En este caso, los ejemplos de la combinación de los dos SNP que identifican la región incluyen las siguientes combinaciones:

- Combinación de SNP (A) y SNP (B)
- Combinación de SNP (A) y SNP (C)
- 35 Combinación de SNP (B) y SNP (C)

Entre estas combinaciones, por ejemplo, la siguiente combinación es preferible debido a que al locus de resistencia muestra mayor correlación con la resistencia a oídio.

5 Combinación de SNP (B) y SNP (C)

Cuando el locus de resistencia se identifica por la secuencia de bases de una región entre los sitios de dos SNP, es preferible que el locus de resistencia cumpla además la(s) condición(es) anteriormente descrita(s) relevante(s) a la secuencia de bases de la región.

10 Específicamente, es preferiblemente que el locus de resistencia cumpla, en la secuencia de bases de la región, al menos una de las condiciones (1) y (2), por ejemplo. También, es preferible que el locus de resistencia además cumpla, en la secuencia de bases de la región, al menos una de las condiciones (3) y (4), por ejemplo.

15 La condición relevante puede ser, por ejemplo, una condición relevante a la secuencia de bases entre los sitios de los SNP en los extremos del lado en dirección 5' y el lado en dirección 3' que identifican la región, y se pueden determinar como apropiado basándose, por ejemplo, en las localizaciones cromosómicas de los SNP (A), (B) y (C) y la secuencia de bases que forma el fragmento amplificado cuando se amplifica mostrado en la Fig. 1. El
20 número de las condiciones relevantes puede ser una o más, por ejemplo. Como ejemplo específico, todas las condiciones relevantes a la secuencia de bases localizada entre los sitios de los SNP que identifican la región se pueden usar como las condiciones relevantes

La combinación de la secuencia de bases entre los sitios de dos SNP en la región y la(s)
25 condición(es) relevante(s) a la secuencia de bases de la región a cumplir por el locus de resistencia no está particularmente limitada, y puede ser la siguiente condición (a), (b) o (c), por ejemplo.

Condición (a): El locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 incluye la secuencia de
30 bases de una región entre los sitios de SNP (A) y SNP (B) en el cromosoma, y cumple al menos una de las condiciones (1) y (2).

Condición (b): El locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 incluye la secuencia de
bases de una región entre los sitios de SNP (B) y SNP (C) en el cromosoma, y cumple al
35 menos una de las condiciones (1) y (2).

Condición (c): El locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 incluye la secuencia de bases de una región entre los sitios de SNP (B) y SNP (C) en el cromosoma, y cumple al menos una de las condiciones (1) y (2) y al menos una de las condiciones (3) y (4).

5

En la condición (a), el locus de resistencia puede cumplir una de las condiciones (1) y (2) o ambas condiciones (1) y (2), por ejemplo.

10

En la condición (b), el locus de resistencia puede cumplir una de las condiciones (1) y (2) o ambas condiciones (1) y (2), por ejemplo.

En la condición (c), la combinación de las condiciones a cumplir por el locus de resistencia no está particularmente limitada, y sus ejemplos incluyen las siguientes combinaciones:

15

Combinación de las condiciones (1) y (3)

Combinación de las condiciones (1) y (4)

Combinación de las condiciones (2) y (3)

Combinación de las condiciones (2) y (4)

Combinación de las condiciones (1), (2) y (3)

Combinación de las condiciones (1), (2) y (4)

20

Combinación de las condiciones (1), (2), (3) y (4)

25

El marcador de resistencia según la presente invención puede conferir resistencia a oídio a plantas de melón, por ejemplo. En la presente invención, el grado de la resistencia a oídio de una planta de melón se puede expresar por el índice de enfermedad con referencia al método descrito en el siguiente Documento de Referencia 2, por ejemplo. Respecto al cálculo del índice de enfermedad según este método, puede referirse a la explicación en el Ejemplo 1 a describir más adelante, y el índice de enfermedad de 1 o menos se puede evaluar como que es tolerante (resistente) a oídio y el índice de enfermedad de 2 o más se puede evaluar como que es susceptible a oídio, por ejemplo.

30

Documento de Referencia 2: LongZhou Liu y col., "A Sequence-amplified Characterized Region Marker for a Single, Dominant Gene in Melon PI 134198 that Confers Resistance to a Unique Race of *Podosphaera xanthii* in China", *HORTSCIENCE*, 2010, vol. 45, No. 9, pp. 1.407-1.410.

35

El marcador de resistencia según la presente invención además puede incluir un marcador para cualquier otra resistencia, por ejemplo.

2. Planta de melón resistente a oídio

5

La planta de melón resistente a oídio de la presente invención es, como se describió anteriormente, una planta de melón resistente a oídio que incluye: un locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 en una forma homocigota, donde el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 cumple al menos una de las siguientes condiciones (1) y (2).

10 Condición (1): El locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por una longitud de un fragmento amplificado obtenido por amplificación usando el siguiente conjunto cebador 1, y la longitud del fragmento amplificado es de 133 pb o más.

Conjunto cebador 1:

un cebador directo 1 que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 1

15 un cebador inverso 1 que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 2

Condición (2):

El locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por polimorfismos de bases en las posiciones 45, 48, 49, 51, 108, 120, 139, 214 y 327 en la secuencia de bases la SEQ ID NO: 3.

20

La planta de melón resistente a oídio de la presente invención se caracteriza por que incluye un locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 en una forma homocigota y que el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 cumple al menos una de las condiciones (1) y (2).

25 Otras configuraciones o condiciones no están particularmente limitadas. La planta de melón resistente a oídio de la presente invención incluye el marcador de resistencia de la presente invención como el locus de resistencia. Por tanto, por ejemplo, la anterior descripción con respecto al marcador de resistencia de la presente invención también se aplica a la planta de melón resistente a oídio de la presente invención. En la presente invención, el locus de

resistencia a oídio en el cromosoma 6 se debería interpretar como intercambiable con el

30 locus de resistencia en el marcador de resistencia de la presente invención, por ejemplo.

Las anteriores descripciones con respecto al marcador de resistencia de la presente invención etc. también se aplica a la planta de melón resistente a oídio de la presente invención, por ejemplo.

35 La planta de melón resistente a oídio de la presente invención es resistente a oídio.

En la planta de melón resistente a oídio de la presente invención, la resistencia a oídio se confiere por el locus de resistencia anteriormente descrito. Aunque la planta de melón resistente a oídio de la presente invención incluye el locus de resistencia en el cromosoma 6 en una forma homocigota, la planta de melón resistente a oídio puede incluir el locus de resistencia en el cromosoma 6, en lugar de en el cromosoma 6, en cualquier cromosoma distinto del cromosoma 6, por ejemplo. Es decir, la planta de melón resistente a oídio puede incluir el locus de resistencia en el cromosoma 6 en cualquiera del cromosoma 1, cromosoma 2, cromosoma 3, cromosoma 4, cromosoma 5, cromosoma 7, cromosoma 8, cromosoma 9, cromosoma 10, cromosoma 11 y cromosoma 12. Cuando la planta de melón resistente a oídio incluye el marcador de resistencia en cualquier cromosoma distinto del cromosoma 6, la planta de melón resistente a oídio puede incluir un locus de resistencia en un cromosoma distinto del cromosoma 6 o dos loci de resistencia en un cromosoma(s) distinto(s) del cromosoma 6, por ejemplo. En el último caso, la planta de melón resistente a oídio puede incluir los dos loci de resistencia en el mismo cromosoma o en diferentes cromosomas, por ejemplo. Como se describió anteriormente, el “cromosoma” también puede ser referido como “grupo de ligamiento”, por ejemplo, y la referencia se puede hacer a la anterior descripción con respecto al cromosoma y el grupo de ligamiento.

En la planta de melón resistente a oídio de la presente invención, la anterior descripción con respecto al marcador de resistencia de la presente invención también se aplica al locus de resistencia, por ejemplo.

La planta de melón resistente a oídio de la presente invención puede cumplir una de las condiciones (1) y (2) o ambas condiciones (1) y (2), por ejemplo. Preferiblemente, la planta de melón resistente a oídio cumple ambas condiciones (1) y (2) debido a que la planta de melón resistente a oídio muestra mayor correlación con la resistencia a oídio.

La planta de melón resistente a oídio de la presente invención puede ser, por ejemplo, la planta de melón depositada bajo el N.º de Acceso FERM BP-22291 (*Cucumis melo*) o una línea progenie de la misma. La planta de melón depositada incluye el locus de resistencia en el cromosoma 6 en una forma homocigota, por ejemplo. La información en el depósito es como sigue.

Tipo de depósito: depósito internacional.

Nombre de la institución depositaria: “National Institute of Technology and

Evaluation”; NITE-IPOD.

Dirección: 2-5-8-120, Kazusakamatari, Kisarazu-shi, Chiba 292-0818, Japón.

N.º de Acceso FERM BP-22291.

Denominación identificativa: Takii8.

5 Fecha de aceptación: 14 de agosto, 2015.

La planta de melón resistente a oídio según la presente invención también se puede producir, por ejemplo, introduciendo el locus de resistencia a una planta de melón. El método para introducir el locus de resistencia a una planta de melón no está particularmente limitado, y se puede usar un procedimiento de ingeniería genética convencionalmente conocido, por ejemplo. El locus de resistencia a introducir puede ser el locus de resistencia a oídio anteriormente descrito, por ejemplo.

Las características de la planta de melón resistente a oídio de la presente invención distintas de la resistencia a oídio, tal como, por ejemplo, características morfológicas y características biológicas, no están particularmente limitadas.

La planta de melón resistente a oídio de la presente invención también puede tener cualquier otra resistencia.

El término “cuerpo vegetal” como se usa en la presente invención se puede referir a cualquier planta individual representando la planta completa o una parte de la planta individual. La parte de la planta individual puede ser cualquiera de los órganos, tejidos, células y propágulos, por ejemplo. Ejemplos de los órganos incluyen pétalos, corolas, flores, hojas, semillas, frutos, tallos y raíces. El tejido es una parte del órgano, por ejemplo. La parte del cuerpo vegetal puede ser un tipo de órgano, tejido y/o célula, o dos o más tipos de órganos, tejidos y/o células, por ejemplo.

3. Método para producir la planta de melón resistente a oídio

A continuación, se describirá el método para producir una planta de melón resistente a oídio según la presente invención (también referido simplemente como “método de producción” en lo sucesivo en este documento). Los métodos a describir más adelante son meramente ilustrativos, y la presente invención de ninguna manera está limitada a estos métodos. En la presente invención, el método de producción también puede ser referido como “método de

cultivo”, por ejemplo. También, en la presente invención, el locus de resistencia a oídio se debería interpretar como intercambiable con el marcador de resistencia según la presente invención.

5 Como se describió anteriormente, el método para producir una planta de melón resistente a oídio según la presente invención incluye las siguientes etapas (a) y (b):

(a) cruzar la planta de melón resistente a oídio según la presente invención con otra planta de melón; y

(b) seleccionar una planta de melón resistente a oídio de una o más plantas de melón obtenidas en la etapa (a) o sus líneas progenie.

El método de producción según la presente invención se caracteriza por que la planta de melón resistente a oídio según la presente invención se usa como planta madre, y otras etapas o condiciones no están particularmente limitadas. Las anteriores descripciones con respecto al marcador de resistencia de la presente invención etc. también se aplican al método de producción de la presente invención, por ejemplo. Como se describió anteriormente, el locus de resistencia a oídio puede conferir la resistencia a oídio aunque sea un locus de gen único, por ejemplo. Por tanto, según el método de producción de la presente invención, por ejemplo, usando el locus de resistencia, las progenies que presentan la resistencia a oídio se pueden obtener fácilmente también a partir de F1 obtenida por cruzamiento de la planta de melón resistente a oídio de la presente invención con otras plantas de melón o sus progenies.

En la etapa (a), una planta de melón resistente a oídio usada como primera planta madre no está limitada siempre y cuando sea la planta de melón resistente a oídio de la presente invención. La planta de melón resistente a oídio preferiblemente es la planta de melón anteriormente descrita depositada bajo el N.º de Acceso FERM BP-22291 o su línea progenie, por ejemplo. La planta de melón resistente a oídio usada como primera planta madre en la etapa (a) también se puede obtener por el método de detección de la presente invención a describir más adelante, por ejemplo. Por tanto, es posible proporcionar la planta de melón resistente a oídio, por ejemplo, seleccionándola de una o más plantas de melón a examinar (también referidas como “plantas de melón candidatas”) por la siguiente etapa (x) antes de la etapa (a), por ejemplo:

(x) seleccionar la planta de melón resistente a oídio de la presente invención a partir de una o más plantas de melón a examinar.

En la etapa (x), la selección de la planta de melón resistente a oídio puede ser referido como selección de la planta de melón que incluye el locus de resistencia. Por tanto, la etapa (x) se puede llevar a cabo por las siguientes etapas (x1) y (x2), por ejemplo.

5 (x1) detectar la presencia o ausencia de un locus de resistencia a oídio en una forma homocigota en los cromosomas de cada una de la una o más plantas de melón a examinar; y

(x2) seleccionar una o más plantas de melón a examinar que tengan el locus de resistencia a oídio en una forma homocigota como planta de melón resistente a oídio.

10

Como se describió anteriormente, la selección en la etapa (x) es la selección de una planta de melón que incluye el locus de resistencia a oídio, por ejemplo. Específicamente, la planta de melón resistente a oídio se puede seleccionar llevando a cabo la detección del locus de resistencia a oídio con respecto a la una o más plantas de melón a examinar. Como se describió anteriormente en relación con el marcador de resistencia de la presente invención, el locus de resistencia a oídio se puede detectar usando, por ejemplo, cualquiera de (i) a (iii) o cualquier combinación de (i) a (iii) cumplida por el locus de resistencia: “(i) Condición basada en la longitud del fragmento amplificado y la combinación de SNP”, “(ii) Condición basada en la(s) secuencia(s) de bases”, y “(iii) Condición basada en la secuencia de bases de la región”.

20

La selección en la etapa (x) se describirá con referencia al siguiente ejemplo específico. Sin embargo, hay que indicar, que la presente invención no se limita al mismo. La descripción con respecto al locus de resistencia a oídio proporcionado anteriormente en relación con el marcador de resistencia de la presente invención también se aplica al locus de resistencia a oídio en el método de producción de la presente invención.

25

La selección en la etapa (x) es, por ejemplo, la selección de una planta de melón resistente a oídio que incluye un locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 en una forma homocigota, y el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 cumple al menos una de las condiciones (1) y (2).

30

En la etapa (x), el locus de resistencia se selecciona, por ejemplo, por (i) la condición basada en al menos una de la longitud de cada uno de los fragmentos amplificados obtenidos por amplificación usando el conjunto cebador y la combinación de SNP, como se

35

describió anteriormente. Además, como se describirá a continuación, el locus de resistencia se puede seleccionar, por ejemplo, por (ii) la condición basada en al menos una de la secuencia de bases de cada uno de los fragmentos amplificados obtenidos por amplificación usando el conjunto cebador y una secuencia de bases que incluye la combinación de SNP, (iii) la condición basada en la secuencia de bases de una región que incluye al menos una de la secuencia de bases de cada uno de los fragmentos amplificados obtenidos por amplificación usando el conjunto cebador y una secuencia de bases que incluye la combinación de SNP, o cualquier combinación de estas condiciones. Cuando el locus de resistencia se selecciona por una combinación de estas condiciones, la combinación no está particularmente limitada, y sus ejemplos incluyen las siguientes combinaciones. Aunque el locus de resistencia se seleccione por (i), por ejemplo, la presente invención no se limita a la misma. Por ejemplo, en lugar de (i), el locus de resistencia se puede seleccionar por (ii) o (iii), o por la combinación de (ii) y (iii).

- Combinación de (i) y (ii)
- Combinación de (i) y (iii)
- Combinación de (i), (ii) y (iii)

(i) Selección por la condición basada en la longitud del fragmento amplificado y la combinación de SNP

En el locus de resistencia, (i) la condición basada en la longitud del fragmento amplificado y/o la combinación de SNP a usar para la selección no está particularmente limitada, y la descripción en la sección "(i) Condición basada en la longitud del fragmento amplificado y la combinación de SNP" proporcionada anteriormente en relación con el marcador de resistencia de la presente invención también se aplica a la misma, por ejemplo.

Como ejemplo específico, la selección en la etapa (x) puede ser, por ejemplo, la selección de una planta de melón resistente a oídio que cumple una de las condiciones (1) y (2) o una planta de melón resistente a oídio que cumple ambas condiciones (1) y (2). En la condición (2), el locus de resistencia además se puede identificar, por ejemplo, por la secuencia de bases desde las posiciones 204 a 213 en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 3 (SEQ ID NO: 7: 5'-AAAAGCTCCA-3').

Además, en la etapa (x), el locus de resistencia además puede cumplir, como la condición basada en la combinación de SNP, al menos una de las condiciones (3) y (4), por ejemplo.

En la condición (3), el locus de resistencia además se puede identificar, por ejemplo, por la combinación de SNP en las posiciones 132 y 457 en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 4.

5 Cuando el locus de resistencia cumple además al menos una de las condiciones (3) y (4), la combinación de las condiciones cumplidas por el locus de resistencia no está particularmente limitada, y sus ejemplos incluyen las combinaciones dadas anteriormente como ejemplos en la descripción con respecto al marcador de resistencia de la presente invención.

10

Aunque el locus de resistencia cumpla, por ejemplo, al menos una de las condiciones (1) y (2) en el método de producción de la presente invención, el locus de resistencia no se limita a la misma. El locus de resistencia puede cumplir al menos una de las condiciones (3) y (4), en lugar de al menos una de las condiciones (1) y (2). En este caso, el locus de resistencia
15 puede cumplir una de las condiciones (3) y (4) o ambas condiciones (3) y (4), por ejemplo. Preferiblemente, el locus de resistencia cumple ambas condiciones (3) y (4) debido a que el locus de resistencia muestra mayor correlación con la resistencia a oídio.

(ii) Selección por la condición basada en la(s) secuencia(s) de bases

20

La selección en la etapa (x) es, por ejemplo, selección de una planta de melón resistente a oídio que incluye el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 en una forma homocigota, y el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 puede cumplir al menos una de las condiciones (5) y (6). En el locus de resistencia, (ii) la condición basada en la(s)
25 secuencia(s) de bases a usar para la selección no está particularmente limitada, y la descripción en la sección "(ii) Condición basada en la(s) secuencia(s) de bases" proporcionada anteriormente en relación con el marcador de resistencia de la presente invención también se aplica a la misma, por ejemplo.

30 Como ejemplo específico, la selección en la etapa (x) puede ser, por ejemplo, la selección de una planta de melón resistente a oídio que cumple una de las condiciones (5) y (6) o una planta de melón resistente a oídio que cumple ambas condiciones (5) y (6).

En la condición (6), el polinucleótido (b2) puede ser de modo que, por ejemplo, además se
35 conserve la secuencia de bases desde las posiciones 204 a 213 (SEQ ID NO: 7: 5'-

AAAAGCTCCA-3') en la secuencia de bases del polinucleótido (b1). En la condición (6), el polinucleótido (b3) puede ser de modo que, por ejemplo, además se conserve la secuencia de bases desde las posiciones 204 a 213 (SEQ ID NO: 7: 5'-AAAAGCTCCA-3') en la secuencia de bases del polinucleótido (b1).

5

Además, en la etapa (x), el locus de resistencia además puede cumplir, como la condición basada en una secuencia(s) de bases, al menos una de las condiciones (7) y (8), por ejemplo. En la condición (7), el polinucleótido (c2) puede ser de modo que, por ejemplo, además se conserven la base (T) en la posición 132 y la base (A) en la posición 457 en la secuencia de bases del polinucleótido (c1). En la condición (7), el polinucleótido (c3) puede ser de modo que, por ejemplo, además se conserve la base (T) en la posición 132 y la base (A) en la posición 457 en la secuencia de bases del polinucleótido (c1).

10

Cuando el locus de resistencia además cumple al menos una de las condiciones (7) y (8), la combinación de las condiciones cumplidas por el locus de resistencia no está particularmente limitada, y sus ejemplos incluyen las combinaciones dadas anteriormente como ejemplos en la descripción con respecto al marcador de resistencia de la presente invención.

15

20 (iii) Selección por la condición basada en la secuencia de bases en la región

La selección en la etapa (x) es, por ejemplo, la selección de una planta resistente a oídio que incluye el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 en una forma homocigota, y el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 puede cumplir la condición (9). En el locus de resistencia, (iii) la condición basada en la secuencia de bases de la región a usar para la selección no está particularmente limitada, y la descripción en la sección "(iii) Condición basada en la secuencia de bases en la región" proporcionada anteriormente en relación con el marcador de resistencia de la presente invención también se aplica a la misma, por ejemplo.

25

30

Como ejemplo específico, es preferible que el locus de resistencia cumpla, en la secuencia de bases de la región, al menos una de las condiciones (1) y (2), por ejemplo. También, es preferible que el locus de resistencia además cumpla, en la secuencia de bases de la región, al menos una de las condiciones (3) y (4), por ejemplo.

35

También, el locus de resistencia puede cumplir la condición anteriormente descrita (a), (b) o (c), por ejemplo.

5 El cromosoma para ser sometido a detección de la presencia o ausencia del locus de resistencia en una forma homocigota preferiblemente es el cromosoma 6.

10 En la etapa (a), la otra planta de melón a usar como planta madre no está particularmente limitada, y puede ser, por ejemplo, una planta de melón que lleva un gen de resistencia a oídio conocido, una planta de melón que tiene cualquier otra resistencia, o la planta de melón resistente a oídio de la presente invención.

15 En la etapa (a), el método para cruzamiento de la planta de melón resistente a oídio con la otra planta de melón no está particularmente limitado, y se puede emplear un método conocido.

20 En la etapa (b), las plantas de melón a partir de las cuales se selecciona una planta de melón resistente a oídio pueden ser las plantas de melón obtenidas en la etapa (a) o líneas progenie obtenidas a partir de estas plantas de melón, por ejemplo. Específicamente, por ejemplo, las plantas de melón a partir de las cuales se selecciona una planta de melón resistente a oídio pueden ser las plantas de melón F1 obtenidas por el cruzamiento en la etapa (a) o sus líneas progenie. La línea progenie puede ser una auto progenie o una progenie de retrocruzamiento de la planta de melón F1 obtenida por el cruzamiento en la etapa (a), o puede ser una planta de melón obtenida por cruzamiento de la planta de melón F1 con otra planta de melón, por ejemplo.

25 En la etapa (b), se puede conseguir la selección de una planta de melón resistente a oídio, por ejemplo, examinando la resistencia a oídio directamente o indirectamente.

30 En la etapa (b), el examen directo se puede llevar a cabo evaluando el oídio de la planta de melón F1 obtenida o una línea progenie de la misma basándose en el índice de enfermedad anteriormente descrito, por ejemplo. Específicamente, por ejemplo, el examen directo se puede llevar a cabo inoculando la planta de melón F1 o su línea progenie con hongos de oídio y evaluando la resistencia a oídio basándose en el índice de enfermedad. En este caso, por ejemplo, se puede seleccionar la planta de melón F1 o la línea progenie que muestra el índice de enfermedad de 1 o menos como planta de melón resistente a oídio.

35

En la etapa (b), la selección por el examen indirecto se puede conseguir mediante las siguientes etapas (b1) y (b2), por ejemplo:

5 (b1) detectar la presencia o ausencia del locus de resistencia a oídio en una forma homocigota en los cromosomas de cada una de la una o más plantas de melón obtenidas en la etapa (a) o sus líneas progenie, y

(b2) seleccionar la una o más plantas de melón obtenidas en la etapa (a) o sus líneas progenie que tienen el locus de resistencia a oídio como planta(s) de melón resistente(s) a oídio.

10

La selección de la(s) planta(s) de melón resistente(s) a oídio en la etapa (b) se puede realizar de la misma manera que en la etapa (x), principalmente, detectando la presencia o ausencia del locus de resistencia a oídio en una forma homocigota, por ejemplo. Más específicamente, la selección se puede realizar detectando la presencia o ausencia del locus de resistencia a oídio en una forma homocigota usando el marcador molecular.

15

El método de producción de la presente invención preferiblemente incluye además el cultivo de la planta de melón resistente a oídio seleccionada en la etapa (b).

20 La planta de melón o la línea progenie que se demostró que era resistente a oídio de la manera anteriormente descrita se puede seleccionar como la planta de melón resistente a oídio.

El método de producción de la presente invención además puede incluir la etapa de recolección de semillas de la línea progenie obtenida por el cruzamiento.

25

4. Método de cribado para las plantas de melón resistentes a oídio

El método de cribado para las plantas de melón resistentes a oídio según la presente invención (también referido simplemente como “método de cribado” en lo sucesivo en este documento) es un método de cribado que incluye la etapa de: como planta madre para la producción de una planta resistente a oídio por cruzamiento, seleccionar una planta de melón resistente a oídio que incluye, como marcador de resistencia a oídio para las plantas de melón, un locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 en una forma homocigota de una o más plantas de melón a examinar, donde el locus de resistencia a oídio en el

35

cromosoma 6 cumple al menos una de las condiciones (1) y (2):

Condición (1): El locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por una longitud de un fragmento amplificado obtenido por amplificación usando el siguiente conjunto cebador 1, y la longitud del fragmento amplificado es de 133 pb o más.

5 Conjunto cebador 1:

un cebador directo que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 1

un cebador inverso que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 2

10 Condición (2): El locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por polimorfismos de bases en las posiciones 45, 48, 49, 51, 108, 120, 139, 214 y 327 en una secuencia de bases la SEQ ID NO: 3.

El método de cribado según la presente invención se caracteriza por que incluye la etapa de selección de una planta resistente a oídio que incluye, como marcador de resistencia a oídio para las plantas de melón, un locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 en una forma
15 homocigota de una o más plantas de melón a examinar y que el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 cumple al menos una de las condiciones (1) y (2). Otras etapas o condiciones no están particularmente limitadas. Según el método de cribado de la presente invención, se puede obtener una planta madre resistente a oídio usando el marcador de resistencia de la presente invención. Las anteriores descripciones con respecto al marcador
20 de resistencia de la presente invención etc. también se puede aplicar al método de cribado de la presente invención, por ejemplo.

Para la selección de la planta madre, también se aplica la explicación para la etapa (x) anteriormente proporcionada en relación con el método para producir una planta de melón
25 resistente a oídio según la presente invención, por ejemplo.

Ejemplos

A continuación, la presente invención se describirá específicamente con referencia a los
30 ejemplos. Sin embargo, hay que indicar, que la presente invención de ninguna manera se limita a las realizaciones descritas en los siguientes ejemplos.

[Ejemplo 1]

35 El presente ejemplo analizó el modo de herencia de un locus de resistencia a oídio en

nuevas plantas de melón resistentes a oídio, identificó el locus de resistencia a oídio y examinó la correlación entre el locus de resistencia a oídio y la resistencia a oídio, para examinar si el locus de resistencia a oídio sirve como marcador de resistencia a oídio para las plantas de melón, si las plantas de melón que incluyen el locus de resistencia son resistentes a oídio, y si la detección de las plantas de melón resistentes a oídio se puede realizar usando el marcador de resistencia a oídio para las plantas de melón.

(1) Línea depositada

Para desarrollar nuevas plantas de melón resistentes a oídio, se sometieron a cultivo una gran cantidad de semillas recolectadas de las líneas de melón obtenidas por cría de subcultivo en una granja que pertenecía a TAKII & CO., LTD., y se examinó la resistencia a oídio de las líneas de melón resultantes. Como resultado, se obtuvieron (también referido como “producido” en lo sucesivo en este documento) nuevas líneas de melón con resistencia a oídio (*Cucumis melo*) que presentaban resistencia a oídio. Las nuevas plantas de melón resistentes a oídio se depositaron bajo el N.º de Acceso FERM BP-22291. En lo sucesivo en este documento estas plantas de melón resistentes a oídio son referidas como “línea depositada”.

(2) Modo de herencia de la resistencia a oídio

Las plantas de melón de la línea depositada (N.º de Acceso FERM BP-22291) se cruzaron con plantas de melón susceptibles a oídio “Harukei N.º 3” (disponible en el Genbank NARO como una planta registrada bajo el N.º de Acceso JP32097, *Cucumis melo*) (también referidas como “plantas de melón susceptibles” en lo sucesivo en este documento), por medio de lo cual se produjo una población de segregación F2 compuesta de 61 individuos (también referida como “61 líneas” en lo sucesivo en este documento). Además, se llevó a cabo un ensayo de inoculación de hongo de oídio de la siguiente manera usando las 61 líneas. Cada individuo de la línea depositada incluye SNP1₄₅, SNP1₄₈, SNP1₄₉, SNP1₅₁, SNP1₁₀₈, SNP1₁₂₀, SNP1₁₃₉, SNP1₂₁₄ y SNP1₃₂₇, SNP2₅₀, SNP2₁₃₂, SNP2₁₄₁, SNP2₂₆₆ y SNP2₄₅₇, y SNP3₉₉, SNP3₁₇₄, SNP3₁₈₄, SNP3₁₉₉ y SNP3₂₀₀ en el cromosoma 6 en una forma homocigota tipo resistente. Es decir, la línea depositada es una planta de melón que cumple las condiciones (1) a (9). La línea depositada es de modo que dos copias del cromosoma 6 incluyen la secuencia de bases desde las posiciones 204 a 213 en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 3 y la longitud de cada uno de los fragmentos amplificados obtenidos por

amplificación usando el conjunto cebador es de 133 pb. Por otro lado, cada una de las plantas de melón susceptibles incluyen SNP₁₄₅, SNP₁₄₈, SNP₁₄₉, SNP₁₅₁, SNP₁₁₀₈, SNP₁₁₂₀, SNP₁₁₃₉, SNP₁₂₁₄, y SNP₁₃₂₇, SNP₂₅₀, SNP₂₁₃₂, SNP₂₁₄₁, SNP₂₂₆₆ y SNP₂₄₅₇, y SNP₃₉₉, SNP₃₁₇₄, SNP₃₁₈₄, SNP₃₁₉₉, y SNP₃₂₀₀ en el cromosoma 6 en una forma homocigota tipo susceptible. La planta de melón susceptible es de modo que dos copias del cromosoma 6 no incluyen la secuencia de bases desde las posiciones 204 a 213 en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 3 y la longitud de cada uno de los fragmentos obtenidos por amplificación usando el conjunto cebador es de 132 pb. Es decir, la planta de melón susceptible es una planta de melón que no cumple las condiciones (1) a (9).

10

El ensayo de inoculación de hongo de oídio se llevó a cabo de la siguiente manera con referencia al método descrito en el anterior Documento de Referencia 2.

15

Se cultivó la línea de hongo de oídio 1 (raza 3.5) en una planta de melón ("OTOME NO INORI", TAKII & CO., LTD.) crecida en un dispositivo de cultivo aislado. La flora fúngica del hongo de oídio sobre hojas de la planta de melón se raspó de las hojas, y se recogieron los conidios del hongo de oídio. Después de eso, se añadió agua destilada estéril a los conidios. Una suspensión obtenida después de añadir el agua destilada estéril se filtró a través de un trapo KimWipes®, y se recogió el filtrado. Además, se preparó una suspensión conidial diluyendo el filtrado con el agua destilada estéril para conseguir una concentración de 5×10^4 conidios/ml. Se usó la suspensión conidial así obtenida como un inóculo. Las 61 líneas se sembraron sobre cáscaras de arroz ahumadas de antemano y, a continuación, se pusieron en 1/10000a macetas Wagner rellenas con suelo esterilizado. En el ensayo de inoculación, se usaron las plantas de melón con la tercera hoja verdadera desarrollándose.

20

25

La suspensión conidial se pulverizó uniformemente sobre las plantas de melón enteras usando un pulverizador de mano. Después de eso, las plantas de melón se cultivaron durante 2 semanas en una habitación de control de ambiente bajo las siguientes condiciones: 20 °C a 25 °C, una humedad de 60 % a 80 %, 14.000 Lux, y una duración de día de 12 horas. A continuación, con respecto a las plantas de melón desarrolladas, la investigación de la enfermedad se llevó a cabo de la siguiente manera. También, la investigación de la enfermedad se llevó a cabo de la misma manera con respecto a 10 individuos seleccionados de la línea depositada y 10 líneas de las plantas de melón susceptibles. La raza del hongo de oídio se determinó basándose en el siguiente Documento de Referencia 3.

30

35

Documento de Referencia 3: Fernando J. Yuste-Lisbona y col., "Codominant PCR-based markers and candidate genes for powdery mildew resistance in melon (*Cucumis melo* L.)", *Theor. Appl. Genet.*, 2011, vol. 122, pp. 747-758.

- 5 En la investigación de la enfermedad, con referencia al método descrito en el anterior Documento de Referencia 2, el índice de enfermedad de las hojas de las plantas de melón sometidas a la investigación se evaluó de acuerdo con los siguientes criterios. Las Figuras 2A a 2D muestran, como criterios de evaluación para el índice de enfermedad, las fotografías que muestran ejemplos representativos de las hojas de las plantas de melón con un índice de enfermedad 0 (Fig. 2A), un índice de enfermedad 1 (Fig. 2B), un índice de enfermedad 2 (Fig. 2C), y un índice de enfermedad 3 (Fig. 2D). En estas fotografías, una región donde se observa esporulación está perfilada con una línea continua e indicada con una flecha.
- 10
- 15 Índice de enfermedad 0: No se observa esporulación (altamente resistente).
Índice de enfermedad 1: se observa ligera esporulación (resistente).
Índice de enfermedad 2: se observa esporulación en una región limitada.
Índice de enfermedad 3: se observa alto nivel de esporulación sobre una amplia región.
- 20 Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 1 de a continuación. Como se puede ver en la Tabla 1, en las 61 líneas, el número de los individuos que presentaban un índice de enfermedad de 1 o menos, es decir, los individuos resistentes a oídio eran 15, los cuales representaban el 24,6 % del número total de los individuos. A partir de la relación entre los índices de enfermedad de las 61 líneas y las frecuencias de aparición de los individuos que tenían los correspondientes índices de enfermedad, se encontró que el modo de herencia de la resistencia a oídio de la línea depositada era monogénico recesivo. Las plantas de melón susceptibles sometidas a la investigación de la enfermedad bajo las mismas condiciones se encontraron que eran susceptibles a oídio. Además, la línea depositada se encontró que era resistente a oídio. No se ha sabido de un locus de resistencia a oídio monogénico recesivo.
- 25
- 30 Por lo tanto, se encontró que el locus de resistencia a oídio incluido en la línea depositada es un nuevo locus de resistencia a oídio.

[Tabla 1]

	Índice de enfermedad				Número total de individuos	Proporción de individuos con índice de enfermedad de 1 o menos
	0	1	2	3		
Línea depositada	7	3	0	0	10	100 %
Plantas de melón susceptibles	0	0	2	8	10	0 %
Población de segregación F2	9	6	8	38	10	24,6 %

(3) Identificación del nuevo locus de resistencia a oídio

Posteriormente, se extrajo el ADN de cada una de las 61 líneas por un método habitual. Además, el ADN se sometió a ensayo de ADN. A continuación, basándose en el índice de enfermedad determinado en el anterior punto (2) y el resultado del ensayo de ADN, el análisis de QTL se realizó usando el programa informático de análisis ("QTL cartographer", NC STATE University). Como resultado, en el cromosoma 6, se identificó una región con alta correlación con el índice de enfermedad. La región con alta correlación es una región que incluye la secuencia de bases que forma el fragmento amplificado cuando se amplifica usando el conjunto cebador 1 y el primer conjunto de SNP. A partir de estos resultados, se encontró que el nuevo locus de resistencia a oídio incluye un gen recesivo monogénico en el cromosoma 6. También, como resultado del análisis de la secuencia de bases de la región con alta correlación, se encontró que las plantas de melón resistentes a oídio eran cada una de modo que: las longitudes de los fragmentos amplificados desde dos copias del cromosoma 6 usando el conjunto cebador 1 son ambas de 133 pb; en las dos copias del cromosoma 6, SNP₁₄₅, SNP₁₄₈, SNP₁₄₉, SNP₁₅₁, SNP₁₀₈, SNP₁₂₀, SNP₁₃₉, SNP₂₁₄ y SNP₃₂₇ son A, A, T, T, T, A, A, T y C, respectivamente; y las dos copias del cromosoma 6 cada una incluyen la secuencia de bases desde las posiciones 204 a 213 en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 3.

(4) Nuevo locus de resistencia a oídio y resistencia a oídio

El ADN de cada una de las 61 líneas se amplificó por PCR usando el conjunto cebador 1, y se midieron las longitudes de los fragmentos amplificados obtenidos por la amplificación. También, el ADN de cada una de las 61 líneas se amplificó por PCR usando el siguiente

conjunto cebador 2, y las bases polimórficas que corresponden al primer conjunto de SNP se identificaron en los fragmentos amplificados obtenidos por la amplificación. La amplificación que usa el conjunto cebador 1 se llevó a cabo incubando el ADN a 94 °C durante 3 minutos, sometiendo, a continuación, el ADN a 35 ciclos de tratamiento (con un tratamiento a 94 °C durante 30 segundos, a 57 °C durante 30 segundos, y a 72 °C durante 60 segundos como un ciclo), y posteriormente incubando el ADN a 72 °C durante 3 minutos. La amplificación que usa el conjunto cebador 2 se llevó a cabo incubando el ADN a 94 °C durante 3 minutos, sometiendo, a continuación, el ADN a 35 ciclos de tratamiento (con un tratamiento a 94 °C durante 30 segundos, a 56 °C durante 30 segundos, y a 72 °C durante 60 segundos como un ciclo), e incubando posteriormente el ADN a 72 °C durante 3 minutos. A continuación, basándose en las longitudes de los fragmentos amplificados y las bases polimórficas que corresponden al primer conjunto de SNP, las 61 líneas se clasificaron en plantas de melón homocigotas tipo resistente (A), plantas de melón heterocigotas (H), y plantas de melón homocigotas tipo susceptible (B). Sus resultados se muestran en la Tabla 2 de a continuación. En la Tabla 2 de a continuación, “A” indica individuos para los cuales se encontró que las longitudes de los fragmentos amplificados obtenidos por amplificación de las dos copias del cromosoma 6 eran ambas de 133 pb o más y el primer conjunto de SNP estaba en forma homocigota tipo resistente. “H” indica individuos para los cuales se encontró que la longitud del fragmento amplificado obtenido por amplificación de una de las dos copias del cromosoma 6 era de 133 pb o más, la longitud del fragmento amplificado obtenido por amplificación de la otra copia del cromosoma 6 era menor que 133 pb y el primer conjunto de SNP estaba en la forma heterocigota. “B” indica individuos para los cuales se encontró que las longitudes de los fragmentos amplificados obtenidos por amplificación de las dos copias del cromosoma 6 eran ambos menores que 133 pb y el primer conjunto de SNP estaba en la forma homocigota tipo susceptible.

Conjunto cebador 2

un cebador directo 2: 5'-GGAAAAATGCAGGGGAAG-3' (SEQ ID NO: 8)

un cebador inverso 2: 5'-CTGCCAAAAGCGACTTAACC-3' (SEQ ID NO: 9)

[Tabla 2]

Genotipo	Índice de enfermedad				Número total de individuos	Proporción de individuos con índice de enfermedad de 1 o menos
	0	1	2	3		

A	9	6	0	0	15	100 %
H	0	0	7	23	30	0 %
B	0	0	1	15	16	0 %

Como se puede ver en la Tabla 2, los individuos clasificados como “A” todos presentaban un índice de enfermedad de 1 o menos. Por otro lado, los individuos clasificados como “H” y “B” todos mostraban un índice de enfermedad de 2 o más. Estos resultados demuestran que el nuevo locus de resistencia a oídio identificado por las longitudes de los fragmentos amplificados y el primer conjunto de SNP es responsable de la resistencia a oídio. También, a partir del hecho de que el locus de resistencia identificado por las longitudes de los fragmentos amplificados y el primer conjunto de SNP, es decir, el locus de resistencia que cumple ambas condiciones (1) y (2) es responsable de la resistencia a oídio, se encontró que el locus de resistencia sirve como marcador de resistencia a oídio para las plantas de melón y que la detección de las plantas de melón resistentes a oídio es posible usando el marcador de resistencia a oídio para plantas de melón.

(5) Examen de resistencia a hongos de oídio conocidos

A partir de las 61 líneas, se seleccionaron 10 líneas de los individuos homocigotos tipo resistentes. A continuación, cada una de las 10 líneas se autocruzaron para producir una línea seleccionada F3. Además, con respecto a las diez líneas seleccionadas F3 producidas así (F3-1 a F3-10), se llevó a cabo un ensayo de inoculación de hongo de oídio de la misma manera que en el anterior punto (2) usando 10 individuos para cada línea seleccionada F3. A continuación, los índices de enfermedad se determinaron para las respectivas líneas seleccionadas F3. El índice de enfermedad de la correspondiente línea seleccionada F3 se determinó según la siguiente ecuación.

Índice de enfermedad = $[(0 \times n_0) + (1 \times n_1) + (2 \times n_2) + (3 \times n_3)]$ /el número de los individuos investigados

En la ecuación anterior, “0, 1, 2 y 3” cada uno indica un índice de enfermedad, y “n₀, n₁, n₂, y n₃” indican el número de individuos evaluados que tienen un índice de enfermedad de 0, un índice de enfermedad de 1, un índice de enfermedad de 2, y un índice de enfermedad de 3, respectivamente.

En el ensayo de inoculación de hongo de oídio, se usaron una línea de hongo de oídio 2 (raza 2F), una línea de hongo de oídio 3 (raza 5), y una línea de hongo de oídio 4 (raza G), además de la línea de hongo de oídio 1. También, se llevó a cabo el ensayo de inoculación de hongo de oídio y el índice de enfermedad se evaluó de la misma manera que en el anterior, excepto que, en lugar de las líneas seleccionadas F3, se usaron las siguientes plantas de melón: como plantas de melón susceptibles a oídio conocidas, Vedrantaís (disponible en la siguiente página de internet: <http://www.burpee.com/heirloom-seeds-and-plants/heirloom-melons/melon-vedrantaís-prod002040.html>), PMR45 (disponible en el “United States Department of Agriculture” [USDA] como PI601383), y las plantas de melón susceptibles anteriormente descritas; como plantas de melón resistentes a oídio conocidas, PMR5 (disponible en USDA como Ames26809), WMR29 (disponible en el “Institut National de la Recherche Agronomique” [INRA]), Edisto47 (disponible en USDA como NSL34600), PI414723 (disponible en USDA), MR1 (disponible en INRA), y PI124112 (disponible en USDA); y la línea depositada. Las razas del hongo de oídio se determinaron con referencia al anterior Documento de Referencia 3. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 3.

[Tabla 3]

	Línea 1 (Raza 3.5)	Línea 2 (Raza 2F)	Línea 3 (Raza 5)	Línea 4 (Raza G)
Vedrantaís	3	3	3	3
PMR45	3	3	3	3
PMR5	3	0	0	3
WMR29	3	0	3	3
Edisto47	3	0	3	3
PI414723	0	0	0	3
MR1	3	0	0	0
PI124112	3	0	0	3
Plantas de melón susceptibles	3	3	3	3
Línea depositada	0,3	0,2	0,1	0,1
F3-1	0,2	0,3	0,2	0,1
F3-2	0,1	0,2	0,2	0,2
F3-3	0,1	0,1	0,3	0,2
F3-4	0,2	0,1	0,1	0,1

F3-5	0,1	0,2	0,3	0,2
F3-6	0,1	0,3	0,1	0,1
F3-7	0,2	0,1	0,2	0,2
F3-8	0,2	0,2	0,1	0,3
F3-9	0,3	0,2	0,1	0,1
F3-10	0,1	0,1	0,2	0,1

Como se puede ver en la Tabla 3, las plantas de melón susceptibles a oídio conocidas Vedrantaís y PMR45 y las plantas de melón susceptibles anteriormente descritas eran todas susceptibles a todas las líneas de hongo de oídio. Las plantas de melón resistentes a oídio conocidas PMR5 y PI124112 eran resistentes a las líneas de hongo de oídio 2 y 3, mientras que eran susceptibles a las líneas de hongo de oídio 1 y 4. WMR29 y Edisto47 eran resistentes a la línea de hongo de oídio 2, mientras que eran susceptibles a las líneas de hongo de oídio 1, 3 y 4. PI1414723 era resistente a las líneas de hongo de oídio 1 a 3, mientras que era susceptible a la línea de hongo de oídio 4. MR1 era resistente a las líneas de hongo de oídio 2 a 4, mientras que era susceptible a la línea de hongo de oídio 1. Por el contrario, las líneas seleccionadas F3 y la línea depositada eran resistentes a todas las líneas de hongo de oídio. Además, puesto que las líneas de hongo de oídio 1 a 4 son todas capaces de infectar plantas de melón que incluyen los genes de resistencia a oídio conocidos, se encontró que el locus de resistencia también es eficaz frente a las líneas de hongo de oídio capaces de infectar plantas de melón que incluyen genes de resistencia a hongo de oídio conocidos. Estos resultados demuestran que las líneas seleccionadas F3 y la línea depositada son resistentes a una pluralidad de razas conocidas de hongo de oídio. Además, mientras que las plantas de melón resistentes a oídio conocidas eran susceptibles a al menos una de las líneas de hongo de oídio 1 a 4, las líneas seleccionadas F3 y la línea depositada eran resistentes a todas las líneas de hongo de oídio 1 a 4. Estos resultados demuestran que el locus de resistencia que cumple ambas condiciones (1) y (2) es un nuevo locus de resistencia a oídio diferente de los loci de resistencia incluidos en las plantas de melón resistentes a oídio conocidas.

25 (6) Locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6

Se produjo una población de segregación F2 de la misma manera que en el anterior punto (2). A continuación, con respecto a la población de segregación F2 así producida, se identificaron las longitudes de los fragmentos amplificados y las bases polimórficas que corresponden al primer conjunto de SNP de la misma manera que el punto anterior (4).

Además, se amplificó el ADN de cada individuo de la población de segregación F2 por PCR usando los siguientes conjuntos cebadores 3 y 4, y se identificaron las bases polimórficas que corresponden al segundo conjunto de SNP y al tercer conjunto de SNP en los fragmentos amplificados obtenidos por la amplificación. La amplificación que usa el conjunto cebador 3 se llevó a cabo incubando el ADN a 94 °C durante 3 minutos, sometiendo, a continuación, el ADN a 35 ciclos de tratamiento (con un tratamiento a 94 °C durante 30 segundos, a 51 °C durante 30 segundos, y a 72 °C durante 60 segundos como un ciclo), e incubando posteriormente el ADN a 72 °C durante 3 minutos. La amplificación que usa el conjunto cebador 4 se llevó a cabo incubando el ADN a 94 °C durante 3 minutos, sometiendo, a continuación, el ADN a 35 ciclos de tratamiento (con un tratamiento a 94 °C durante 30 segundos, a 58 °C durante 30 segundos, y a 72 °C durante 60 segundos como un ciclo), e incubando posteriormente el ADN a 72 °C durante 3 minutos.

Conjunto cebador 3

un cebador directo 3: 5'-AGGAAACGAAGAATAGACG-3' (SEQ ID NO: 10)
 un cebador inverso 3: 5'-TGAGAACCGGAAAGAGAAGC-3' (SEQ ID NO: 11)

Conjunto cebador 4

un cebador directo 4: 5'-GTTCGGATCGGAAAATTCAA-3' (SEQ ID NO: 12)
 un cebador inverso 4: 5'-CCAAGCTTTCCGACATTCAT-3' (SEQ ID NO: 13)

A continuación, con respecto a la población de segregación F2, se clasificaron las longitudes de los fragmentos amplificados y los genotipos del primer conjunto de SNP, el segundo conjunto de SNP, y el tercer conjunto de SNP. También, con respecto a la población de segregación F2, se llevó a cabo el ensayo de inoculación de hongo de oídio y el índice de enfermedad se evaluó de la misma manera que en el anterior punto (2). Entre los resultados obtenidos, la Tabla 4 muestra que los resultados obtenidos con respecto a: cuatro individuos (líneas X1 a X4) que difieren uno de otro en las longitudes de los fragmentos amplificados y los genotipos del primer conjunto de SNP, el segundo conjunto de SNP, y el tercer conjunto de SNP; la línea depositada; la línea susceptible; y las líneas F1 obtenidas de la línea depositada y la línea susceptible. Respecto a las longitudes de los fragmentos amplificados mostrados en la Tabla 4 de a continuación, "A" indica que las longitudes de los fragmentos amplificados obtenidos por amplificación de las dos copias del cromosoma 6 usando el conjunto cebador 1 eran ambas de 133 pb o más. "H" indica que la longitud del fragmento amplificado obtenido por amplificación de una de las dos copias del cromosoma 6 usando el

conjunto cebador 1 era de 133 pb o más, y la longitud del fragmento amplificado obtenido por amplificación de la otra copia del cromosoma 6 era menor que 133 pb. “B” indica que las longitudes de los fragmentos amplificados obtenidos por amplificación de las dos copias del cromosoma 6 eran ambas menores que 133 pb. Además, con respecto al primer conjunto de SNP, el segundo conjunto de SNP, y el tercer conjunto de SNP mostrados en la Tabla 4 de a continuación, “A” indica que cada uno de los conjuntos de SNP estaba en la forma homocigota tipo resistente, “H” indica que cada uno de los conjuntos de SNP estaba en la forma homocigota, y “B” indica que cada uno de los conjuntos de SNP estaba en la forma homocigota tipo susceptible. En la Tabla 4, A está sombreado.

10

[Tabla 4]

	Segundo conjunto de SNP	Longitudes de fragmentos por amplificación	Primer conjunto de SNP	Tercer conjunto de SNP	Índice de enfermedad
Línea X1	H	A	A	A	0
Línea X2	A	H	H	H	3
Línea X3	H	H	H	A	3
Línea X4	H	A	A	H	1
Línea depositada	A	A	A	A	0
Líneas F1	H	H	H	H	3
Planta de melón susceptible	B	B	B	B	3

Como se puede ver en la Tabla 4, todos los individuos clasificados como “A” con respecto a las longitudes de los fragmentos amplificados y el primer conjunto de SNP presentaban un índice de enfermedad de 1 o menos. A partir de estos resultados, se encontró que, en el locus de resistencia, las longitudes de los fragmentos amplificados y el primer conjunto de SNP muestra alta correlación con la resistencia a oídio. En otras palabras, se encontró que las condiciones (1) y (2) muestran alta correlación con la resistencia a oídio. También, a partir del hecho de que las longitudes de los fragmentos amplificados y el primer conjunto de SNP muestre alta correlación con la resistencia a oídio, se encontró que una región entre los

20

sitios de cualquiera de cualquier de los dos SNP seleccionados del segundo conjunto de SNP y el tercer conjunto de SNP, es decir, una región que incluye los fragmentos amplificados y el primer conjunto de SNP, muestra alta correlación con la resistencia a oídio. En otras palabras, se encontró que la condición (9) muestra alta correlación con la resistencia a oídio. A partir de estos resultados, se encontró que el locus de resistencia que cumple al menos una de las condiciones (1) y (2) y el locus de resistencia que cumple la condición (9) cada uno sirve como marcador de resistencia a oídio para las plantas de melón y que es posible la detección de las plantas de melón resistentes a oídio usando el marcador de resistencia a oídio para las plantas de melón.

5

Aunque la presente invención se ha descrito anteriormente con referencia a las realizaciones y los ejemplos, la presente invención de ninguna manera se limita a los mismos. Se pueden realizar diversos cambios y modificaciones que pueden llegar a ser aparentes a los expertos en la técnica en la configuración y los detalles de la presente invención sin desviarse del alcance de la presente invención.

10

Esta solicitud reivindica la prioridad a partir de la Solicitud de Patente Japonesa N.º 2015-222794 presentada el 13 de noviembre de 2015. La divulgación entera de esta solicitud de patente japonesa está incorporada en el presente documento como referencia.

15

Aplicabilidad industrial

El marcador de resistencia a oídio para las plantas de melón según la presente invención permite fácil detección de plantas de melón resistentes a oídio, por ejemplo. También, la planta de melón resistente a oídio según la presente invención incluye el locus de resistencia a oídio, por ejemplo, y así puede presentar resistencia a oídio, por ejemplo. Además, el locus de resistencia a oídio puede conferir la resistencia a oídio aunque sea un locus de gen único, por ejemplo. Por tanto, según la planta resistente a oídio de la presente invención, por ejemplo, las progenies que presentan resistencia a oídio se pueden obtener fácilmente también a partir de la F1 obtenida cruzando la planta de melón resistente a oídio de la presente invención con otras plantas de melón o sus progenies. Además, una planta de melón que incluye el marcador de resistencia a polvo es resistente a razas de hongos de oídio capaces de infectar plantas de melón que incluyen los genes de resistencia a oídio descritos en el documento de la técnica anterior, por ejemplo. Por tanto, la planta de melón resistente a oídio de la presente invención puede eliminar la necesidad de prevención y

20

25

30

35

exterminación usando compuestos químicos agrícolas como se realiza convencionalmente, de manera que se puede evitar el problema de trabajo y coste para la pulverización de los compuestos químicos agrícolas, por ejemplo.

- 5 [Listado de secuencia]
TF15023WO_ST25.txt

REIVINDICACIONES

1. Un marcador de resistencia a oídio para una planta de melón, donde el marcador de resistencia a oídio comprende un locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 en una forma homocigota, donde el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 cumple al menos una de las siguientes condiciones (1) y (2):

Condición (1): el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por una longitud de un fragmento amplificado obtenido por amplificación usando un conjunto cebador 1, y la longitud del fragmento amplificado es de 133 pb o más,

donde el conjunto cebador 1 comprende un cebador directo 1 que consiste en una secuencia de bases SEQ ID NO: 1, y un cebador inverso 1 que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 2; y

Condición (2): el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por polimorfismos de bases en las posiciones 45, 48, 49, 51, 108, 120, 139, 214 y 327 en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 3.

2. El marcador de resistencia a oídio según la reivindicación 1, donde en la condición (2), el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por una secuencia de bases desde las posiciones 204 a 213 en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 3.

3. El marcador de resistencia a oídio según la reivindicación 1 o 2, donde el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 cumple al menos una de las siguientes condiciones (3) y (4):

Condición (3): el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por polimorfismos de bases en las posiciones 50, 141 y 266 en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 4; y

Condición (4): el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por polimorfismos de bases en las posiciones 99, 174, 184, 199 y 200 en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 5.

4. El marcador de resistencia a oídio según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 cumple al menos una de las siguientes condiciones (5) y (6):

Condición (5): el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por el polinucleótido (a), donde dicho polinucleótido (a) es el polinucleótido (a1) o (a3), siendo el

polinucleótido (a1) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 6, y siendo el polinucleótido (a3) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia a la secuencia de bases del polinucleótido (a1); y

5 Condición (6): el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por el polinucleótido (b), donde dicho polinucleótido (b) es el polinucleótido (b1) o (b3), siendo el polinucleótido (b1) un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 3, y siendo el polinucleótido (b3) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia a la secuencia de bases del polinucleótido (b1) con la base (A) en la posición 45, la base (A) en la posición 48, la base (T) en la posición 49, la base (T) en la posición 51, la base (T) en la posición 108, la base (A) en la posición 120, la base (A) en la posición 139, la base (T) en la posición 214, y la base (C) en la posición 327 en la secuencia de bases del polinucleótido (b1) que se conserva.

15

5. El marcador de resistencia a oídio según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 cumple al menos una de las siguientes condiciones (7) y (8):

20 Condición (7): el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por el polinucleótido (c), donde dicho polinucleótido (c) es el polinucleótido (c1) o (c3), siendo el polinucleótido (c1) un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 4, y siendo el polinucleótido (c3) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia a la secuencia de bases del polinucleótido (c1) con la base (C) en la posición 50, la base (A) en la posición 141, y la base (T) en la posición 266 en la secuencia de bases del polinucleótido (c1) que se conserva; y

25

30 Condición (8): el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por el siguiente polinucleótido (d), donde dicho polinucleótido (d) es el polinucleótido (d1) o (d3), siendo el polinucleótido (d1) un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 5, y siendo el polinucleótido (d3) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia a la secuencia de bases del polinucleótido (d1) con la base (C) en la posición 99, la base (G) en la posición 174, la base (T) en la posición 184, la base (A) en la posición 199, y la base (T) en la posición 200 en la secuencia de bases del polinucleótido (d1) que se conserva.

35

6. Una planta de melón resistente a oídio que comprende:
un locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 en una forma homocigota,
donde el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 cumple al menos una de las
siguientes condiciones (1) y (2):
- 5 Condición (1): el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por una
longitud de un fragmento amplificado obtenido por amplificación usando el siguiente
conjunto cebador 1, y la longitud del fragmento amplificado es de 133 pb o más,
donde el conjunto cebador 1 comprende un cebador directo 1 que consiste en una
secuencia de bases SEQ ID NO: 1 y un cebador inverso 1 que consiste en una secuencia de
10 bases SEQ ID NO: 2; y
- Condición (2): el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por
polimorfismos de bases en las posiciones 45, 48, 49, 51, 108, 120, 139, 214 y 327 en una
secuencia de bases de la SEQ ID NO: 3.
- 15 7. La planta de melón resistente a oídio según la reivindicación 6, donde, en la
condición (2), el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por una
secuencia de bases desde las posiciones 204 a 213 en la secuencia de bases de la SEQ ID
NO: 3.
- 20 8. La planta de melón resistente a oídio según la reivindicación 6 o 7, donde el locus de
resistencia a oídio en el cromosoma 6 cumple al menos una de las siguientes condiciones
(3) y (4):
- Condición (3): el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por
polimorfismos de bases en las posiciones 50, 141 y 266 en una secuencia de bases de la
25 SEQ ID NO: 4; y
- Condición (4): el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por
polimorfismos de bases en las posiciones 99, 174, 184, 199 y 200 en una secuencia de
bases de la SEQ ID NO: 5.
- 30 9. La planta de melón resistente a oídio según una cualquiera de las reivindicaciones 6
a 8, donde el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 cumple al menos una de las
siguientes condiciones (5) y (6):
- Condición (5): el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por el
polinucleótido (a), donde dicho polinucleótido (a) es el polinucleótido (a1) o (a3), siendo el
35 polinucleótido (a1) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID

NO: 6, y siendo el polinucleótido (a3) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia a la secuencia de bases del polinucleótido (a1); y

5 Condición (6): el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por el siguiente polinucleótido (b), donde dicho polinucleótido (b) es el polinucleótido (b1) o (b3), siendo el polinucleótido (b1) un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 3, y siendo el polinucleótido (b3) un polinucleótido que consiste en una
 10 secuencia de bases que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia a la secuencia de bases del polinucleótido (b1) con la base (A) en la posición 45, la base (A) en la posición 48, la base (T) en la posición 49, la base (T) en la posición 51, la base (T) en la posición 108, la base (A) en la posición 120, la base (A) en la posición 139, la base (T) en la posición 214, y la base (C) en la posición 327 en la secuencia de bases del polinucleótido (b1) que se conserva.

15 10. La planta de melón resistente a oídio según una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, donde el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 cumple al menos una de las siguientes condiciones (7) y (8):

Condición (7): el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por el polinucleótido (c), donde dicho polinucleótido (c) es el polinucleótido (c1) o (c3), siendo el
 20 polinucleótido (c1) un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 4, y siendo el polinucleótido (c3) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia a la secuencia de bases del polinucleótido (c1) con la base (C) en la posición 50, la base (A) en la posición 141, y la base (T) en la posición 266 en la secuencia de bases del polinucleótido (c1) que se
 25 conserva; y

Condición (8): el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por el siguiente polinucleótido (d), donde dicho polinucleótido (d) es el polinucleótido (d1) o (d3), siendo el polinucleótido (d1) un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la
 30 SEQ ID NO: 5, y siendo el polinucleótido (d3) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia a la secuencia de bases del polinucleótido (d1) con la base (C) en la posición 99, la base (G) en la posición 174, la base (T) en la posición 184, la base (A) en la posición 199, y la base (T) en la posición 200 en la secuencia de bases del polinucleótido (d1) que se conserva.

35 11. La planta de melón resistente a oídio según una cualquiera de las reivindicaciones 6

a 10, donde la planta de melón resistente a oídio es una planta de melón identificada por el N.º de Acceso FERM BP-22291 o una línea progenie de la misma.

5 12. La planta de melón resistente a oídio según una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 11, donde la planta de melón resistente a oídio es un cuerpo vegetal o una parte del mismo.

10 13. La planta de melón resistente a oídio según una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 12, donde la planta de melón resistente a oídio es una semilla.

14. Un método de cribado para una planta de melón resistente a oídio, caracterizado por que comprende seleccionar una planta de melón resistente a oídio que incluye un marcador de resistencia a oídio para las plantas de melón que consiste en un locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 en una forma homocigota de una o más plantas de melón a examinar, donde el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 cumple al menos una de las condiciones (1) y (2):

20 Condición (1): el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por una longitud de un fragmento amplificado obtenido por amplificación usando el siguiente conjunto cebador 1, y la longitud del fragmento amplificado es de 133 pb o más,

20 donde el conjunto cebador 1 comprende un cebador directo 1 que consiste en una secuencia de bases SEQ ID NO: 1 y un cebador inverso 1 que consiste en una secuencia de bases SEQ ID NO: 2; y

25 Condición (2): el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por polimorfismos de bases en las posiciones 45, 48, 49, 51, 108, 120, 139, 214 y 327 en una secuencia de bases la SEQ ID NO: 3.

30 15. El método de cribado según la reivindicación 14, donde en la condición (2), el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por una secuencia de bases desde las posiciones 204 a 213 en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 3.

16. El método de cribado según una cualquiera de las reivindicaciones 14 o 15, donde el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 cumple al menos una de las siguientes condiciones (3) y (4):

35 Condición (3): el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por polimorfismos de bases en las posiciones 50, 141 y 266 en una secuencia de bases de la

SEQ ID NO: 4; y

Condición (4): el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por polimorfismos de bases en las posiciones 99, 174, 184, 199 y 200 en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 5.

5

17. El método de cribado según una cualquiera de las reivindicaciones 14 a 16, donde el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 cumple al menos una de las siguientes condiciones (5) y (6):

Condición (5): el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por el polinucleótido (a), donde dicho polinucleótido (a) es el polinucleótido (a1) o (a3), siendo el polinucleótido (a1) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 6, y siendo el polinucleótido (a3) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia a la secuencia de bases del polinucleótido (a1); y

Condición (6): el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por el polinucleótido (b), donde dicho polinucleótido (b) es el polinucleótido (b1) o (b3), siendo el polinucleótido (b1) un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases SEQ ID NO: 3, y siendo el polinucleótido (b3) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia a la secuencia de bases del polinucleótido (b1) con la base (A) en la posición 45, la base (A) en la posición 48, la base (T) en la posición 49, la base (T) en la posición 51, la base (T) en la posición 108, la base (A) en la posición 120, la base (A) en la posición 139, la base (T) en la posición 214, y la base (C) en la posición 327 en la secuencia de bases del polinucleótido (b1) que se conserva.

25

18. El método de cribado según una cualquiera de las reivindicaciones 14 a 17, donde el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 cumple al menos una de las siguientes condiciones (7) y (8):

Condición (7): el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por el polinucleótido (c), donde dicho polinucleótido (c) es el polinucleótido (c1) o (c3), siendo el polinucleótido (c1) un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 4, y siendo el polinucleótido (c3) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia a la secuencia de bases del polinucleótido (c1) con la base (C) en la posición 50, la base (A) en la posición 141, y la base (T) en la posición 266 en la secuencia de bases del polinucleótido (c1) que se

35

conserva; y

Condición (8): el locus de resistencia a oídio en el cromosoma 6 se identifica por el polinucleótido (d), donde dicho polinucleótido (d) es el polinucleótido (d1) o (d3), siendo el polinucleótido (d1) un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 5, y siendo el polinucleótido (d3) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia a la secuencia de bases del polinucleótido (d1) con la base (C) en la posición 99, la base (G) en la posición 174, la base (T) en la posición 184, la base (A) en la posición 199, y la base (T) en la posición 200 en la secuencia de bases del polinucleótido (d1) que se conserva.

10

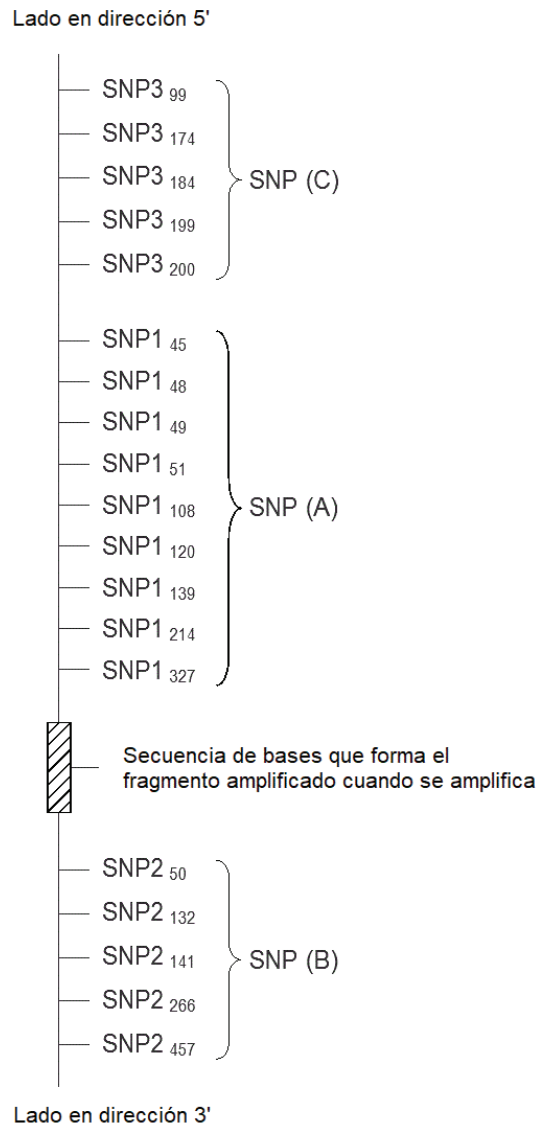


FIG. 1

Índice de enfermedad 0



FIG. 2A

Índice de enfermedad 1



FIG. 2B

Índice de enfermedad 3

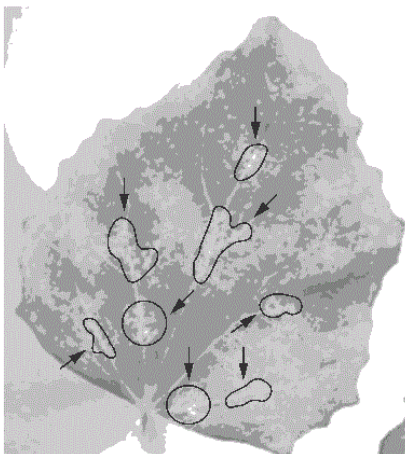


FIG. 2C

Índice de enfermedad 4

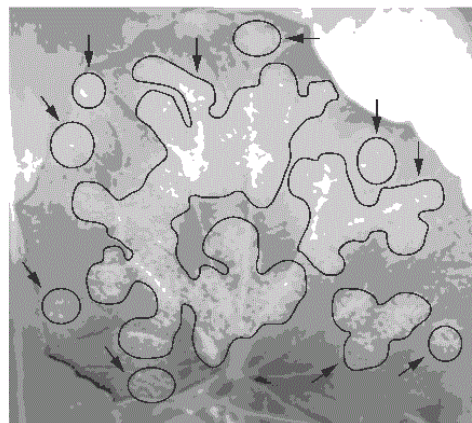


FIG. 2D