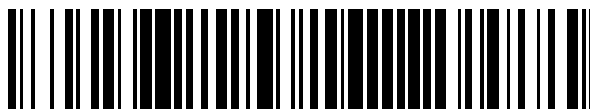


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 798 147**

51 Int. Cl.:

C12N 15/82 (2006.01)

C12N 15/29 (2006.01)

A01H 1/04 (2006.01)

A01H 5/00 (2008.01)

C12N 9/88 (2006.01)

C07K 14/415 (2006.01)

C12N 15/60 (2006.01)

C12N 5/10 (2006.01)

C12N 5/04 (2006.01)

C12Q 1/68 (2008.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.07.2009 PCT/FR2009/051510**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.02.2010 WO10012948**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.07.2009 E 09740394 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.04.2020 EP 2318536**

54 Título: **Combinación de dos elementos genéticos para el control del desarrollo del tipo floral de una planta dicotiledónea, y utilización en procedimientos de detección y selección**

30 Prioridad:

28.07.2008 FR 0855146

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
09.12.2020

73 Titular/es:

**INSTITUT NATIONAL DE RECHERCHE POUR
L'AGRICULTURE, L'ALIMENTATION ET
L'ENVIRONNEMENT (100.0%)
147, rue de l'Université
75007 Paris, FR**

72 Inventor/es:

**BENDAHDANE, ABDELHAFID;
BOUALEM, ADNANE;
TROADEC, CHRISTELLE;
ANTOINE, MARTIN y
DOGIMONT, CATHERINE**

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 798 147 T3

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

DESCRIPCIÓN

Combinación de dos elementos genéticos para el control del desarrollo del tipo floral de una planta dicotiledónea, y utilización en procedimientos de detección y selección

Campo de la invención

La presente invención se refiere al campo de la selección de variedades de plantas y, en particular, a la selección del tipo sexual de las plantas. Se refiere a la detección genotípica del sexo de las plantas mediante análisis del polimorfismo de un gen A y un gen G, así como a medios de utilización de esta detección en procedimientos de obtención de plantas cuyo fenotipo sexual es modificado.

Técnica anterior

La realización de plantas híbridas es de gran interés en agronomía y en agricultura. En efecto, las plantas híbridas, gracias al fenómeno de heterosis denominado también vigor híbrido presentan una superioridad en numerosos caracteres con respecto a la media de sus dos progenitores. Esta superioridad se puede utilizar, por ejemplo, para un mejor vigor, un mejor rendimiento, una mayor adaptación al medio en el que el híbrido es cultivado y una gran uniformidad de los híbridos con respecto a sus progenitores. Este vigor híbrido es tanto más importante cuanto más estén genéticamente alejados los progenitores.

La creación de líneas puras y estables, futuras progenitores del híbrido, es un paso obligado para la creación de variedades híbridas homogéneas y reproducibles que expresen el máximo de heterosis. Por tanto, es necesario crear líneas puras y estables, seguidamente hacer crecer estas líneas para obtener híbridos.

La creación de líneas puras implica la autofecundación de una planta de forma que se obtengan plantas que presenten un mismo patrimonio genético fijado por el conjunto de los caracteres de productividad, regularidad y rendimiento o incluso resistencia a las enfermedades, que se investigan.

Para crear líneas puras es necesario por tanto utilizar plantas cuyo tipo sexual permita la autofecundación, por ejemplo, plantas hermafroditas.

No obstante, muchas de las plantas dicotiledóneas y, en particular, las cucurbitáceas, pueden ser monoicas, andromonoicas, ginoicas o hermafroditas.

Una primera técnica utilizada para la obtención de líneas puras consiste en realizar un tratamiento químico de las plantas, de forma que se obtengan plantas adecuadas para autofecundarse, por ejemplo, plantas hermafroditas. En el caso del melón (*cucumis melo*) por ejemplo, la pulverización de inhibidores de la síntesis de etileno como nitrato de plata o tiosulfato de plata implica la aparición temporal de estambres en las flores hembras (Rudich *et al.*, 1969; Risser *et al.*, 1979). De esta forma, la transformación de plantas ginoicas en plantas hermafroditas se utiliza para el mantenimiento de líneas puras.

No obstante, la producción de líneas puras mediante este método está limitada por el coste de los agentes químicos, la duración de su acción y sus efectos citotóxicos. Además, estos agentes pueden no ser eficaces en los que se refiere a la realización de híbridos a partir de plantas cuya duración de floración es prolongada, ya que las nuevas flores aparecidas después del tratamiento podrían no estar afectadas por el tratamiento químico.

Por tanto, existe una necesidad de un sistema que permita controlar el desarrollo del tipo floral de una planta dicotiledónea y obtener una planta de un tipo floral determinado.

Además, son necesarios crecimientos muy numerosos para obtener híbridos interesantes a partir de líneas puras y, en cada crecimiento, son retenidas las plantas que presentan el fenotipo más prometedor.

Durante el crecimiento de las líneas puras entre ellas, es indispensable poder escoger el sentido del crecimiento efectuado y evitar la autopolinización de las plantas que conduciría a plantas que no presentan el vigor híbrido buscado.

Todavía en este caso, debido a la diversidad del tipo sexual de las plantas dicotiledóneas, es necesario separar las flores machos y las flores hembras de una misma planta para evitar la autopolinización.

En una primera técnica, realizada particularmente para el maíz, consiste en utilizar medios mecánicos para realizar una emasculación de las plantas. No obstante, esta técnica demuestra ser extremadamente costosa ya que necesita la emasculación de cada planta de la que se quiere evitar la autopolinización para cada crecimiento efectuado.

Otra técnica consiste en realizar una emasculación química de las plantas, bloqueando la formación de polen viable. Así, en el caso del melón (*Cucumis melo*), el tratamiento de plantas monoicas por etrel (precursor de etileno) implica

la desaparición temporal de las flores machos.

Estos agentes químicos, denominados gematocidas, utilizados para provocar una esterilidad masculina transitoria, presentan varios inconvenientes como un coste elevado o una gran toxicidad, como ya se ha indicado con anterioridad.

Las técnicas mecánicas o químicas de control del tipo floral anteriormente descritas muestran ser muy costosas, en cuanto que son necesarios crecimientos muy numerosos para obtener plantas híbridas que presenten los caracteres buscados y que puedan ser comercializadas.

Para facilitar la creación de líneas puras y de híbridos, por tanto, existe también una necesidad de un sistema que permita controlar el desarrollo del tipo floral de una planta dicotiledónea y obtener una planta de un tipo floral determinado.

Otra vía para obtener plantas capaces de autopolinización útiles para la creación de líneas puras, o no capaces de autopolinización, para la creación de híbridos podría consistir, respectivamente, en una selección de individuos exclusivamente hermafroditas, o exclusivamente hembras, presentes en una especie. No obstante, esta técnica se mostraría extremadamente costosa también, ya que necesitaría el cultivo de un número muy considerable de plantas, hasta el momento en que sea posible determinar el tipo sexual. Esta técnica sería además aleatoria, ya que los mecanismos de determinación del sexo de las flores dependen particularmente de factores medioambientales.

Según todavía otra vía, se ha buscado identificar y caracterizar los determinantes genéticos que participan en el control del tipo floral en el melón. En el caso del melón, el control genético de determinación del sexo está gobernado por dos determinantes genéticos principales, respectivamente (1) el determinante genético andromonoico ("*Andromoeocious*" o "a") y (2) el determinante genético ginoico ("*gynoecious*" o "g"), poseyendo cada determinante al menos dos alelos y cuyas combinaciones producen una gran variedad de fenotipos sexuales. La solicitud internacional PCT publicada con el nº WO 2007/125264 describe la identificación y caracterización del determinante genético (a) que muestra que consiste en un gen que codifica una aminociclopropano-carboxilato sintasa (ACS). Por tanto, la solicitud PCT nº 2007/12564 proporciona medios de detección y control que permiten seleccionar o generar plantas dicotiledóneas que poseen el alelo (a) dominante o el alelo (a) recesivo. El determinante genético (g) continúa siendo totalmente desconocido. Además de ello, los datos preliminares sugerían que el determinante genético (g), de naturaleza y estructura desconocidas, podría estar localizado en una amplia región genómica de más de 2,4 megabases delimitada por marcadores denominados M8 y M30. Debido a que está comúnmente admitido que existe una media de 12 marcos abiertos de lectura ("ORFs") en 100 kilobases de genoma vegetal, la región genómica delimitada entre los marcadores M8 y M30 podría contener aproximadamente 300 marcos abiertos de lectura.

No obstante, en ausencia de caracterización del segundo determinante genético ginoico (o "g"), no fue posible poner a disposición pública medios de selección o control del desarrollo del tipo floral que permitan, por ejemplo, discriminar o generar una población de plantas estrictamente hembras, ya que este fenotipo es controlado exclusivamente por el determinante genético (g). Igualmente, la selección o la obtención de una población de plantas exclusivamente hermafroditas solo sería posible después de la identificación y caracterización del determinante genético (g).

Por tanto, existe también una necesidad de un procedimiento que permita seleccionar plantas dicotiledóneas, por ejemplo, hermafroditas o hembras, sin que sea necesario por ello cultivarlas.

Este procedimiento debería permitir seleccionar plantas, particularmente útiles para la realización de líneas puras o híbridos, como se ha precisado con anterioridad.

Compendio de la invención

Según la invención, se ha identificado y caracterizado el determinante genético (g) ginoico para el control del desarrollo floral de una planta dicotiledónea que es un angiosperma y, más precisamente, una planta de la familia de las cucurbitáceas.

La identificación y caracterización del determinante genético (g) ginoico permitió por primera vez la puesta a punto de una combinación de los dos determinantes genéticos (a) andromonoico y (g) ginoico que permiten controlar en su totalidad el desarrollo del tipo floral de una planta dicotiledónea, cualquiera que sea el fenotipo sexual que se considere.

La invención se refiere por tanto a una combinación de dos elementos genéticos (A/a) y (G/g) que permite controlar el desarrollo del tipo floral de una planta dicotiledónea, en particular de una cucurbitácea como el melón.

Ya se ha mostrado en el estado de la técnica que, fisiológicamente, los dos alelos (A) y (a) se distinguen por proporciones de actividad enzimática diferentes de una proteína, la aminociclopropano-carboxilato sintasa, también

denominada ACS.

Los inventores han mostrado ahora que fisiológicamente, los dos alelos (G) y (g) que han sido identificados y caracterizados según la invención, se distinguen por proporciones diferentes de una nueva proteína, la proteína CmWIP1.

La invención tiene por tanto por objeto la utilización de una combinación de dos elementos genéticos para el control del desarrollo del tipo floral de una planta dicotiledónea, comprendiendo dicha combinación, respectivamente:

a) un primer elemento genético de control (A/a) presente en dicha planta dicotiledónea, en la forma de un alelo dominante (A) y de un alelo recesivo (a), en el cual:

- el alelo dominante (A) consiste en un ácido nucleico (NA) que permite la expresión de la proteína ACS (aminociclopropano-carboxilato sintasa) de secuencia SEQ ID N° 3,

- el alelo recesivo (a), se distingue del alelo dominante en que dicho alelo recesivo (A) es no funcional en dicha planta dicotiledónea, y

b) un segundo elemento genético de control (G/g) presente en dicha planta dicotiledónea, en forma de un alelo dominante (G) y un alelo recesivo (g), en el cual:

- el alelo dominante (G) consiste en un ácido nucleico (NG) que permite la expresión de la proteína CmWIP1 de la secuencia SEQ ID N° 12

- el alelo recesivo (g) se distingue del alelo dominante en que dicho alelo recesivo (g) es no funcional en dicha planta dicotiledónea,

debiendo entenderse que al menos el segundo elemento genético de control ha sido artificialmente introducido en dicha planta dicotiledónea.

En ciertos modos de realización según la invención, para el segundo elemento genético de control (G/g), las características respectivas del alelo dominante (G) y el alelo recesivo (g) son las siguientes:

- el alelo dominante (G) consiste en un ácido nucleico (NG) que comprende:

(i) un polinucleótido regulador (PG) funcional en una planta dicotiledónea y

(ii) un ácido nucleico cuya expresión está regulada por el polinucleótido regulador (PG), en que dicho ácido nucleico codifica la proteína CmWIP1 de secuencia SEQ ID N° 12,

el alelo recesivo (g) se distingue del alelo dominante (G) por un ácido nucleico no funcional y comprende:

(i) un polinucleótido regulador (Pg) cuya secuencia de nucleótidos comprende al menos una mutación, una inserción o una delección con respecto al ácido nucleico de secuencia SEQ ID N° 13 conduciendo dicho ácido nucleico a una expresión reducida o nula de la proteína CmWIP1 de secuencia SEQ ID N° 12, o

(ii) un ácido nucleico (Ng) que codifica una proteína que difiere de la proteína CmWIP1 de secuencia SEQ ID N° 12 por la sustitución, la inserción o la delección de uno o varios aminoácidos y que no posee la actividad biológica de dicha proteína CmWIP1 en dicha planta dicotiledónea.

El solicitante describe una proteína ACS que abarca la proteína de secuencia SEQ ID N° 3 o una proteína que tiene al menos un 90% de identidad en aminoácidos, preferentemente, al menos 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad en aminoácidos, con la proteína de secuencia SEQ ID N° 3.

El solicitante describe una proteína CmWIP1 que abarca la proteína de secuencia SEQ ID N° 12 o una proteína que tiene al menos un 90% de identidad en aminoácidos, preferentemente al menos un 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad en aminoácidos con la proteína de secuencia SEQ ID N° 12. La proteína CmWIP1 puede abarcar también la proteína de secuencia SEQ ID N° 16 o una proteína que tiene al menos un 90% de identidad en aminoácidos, preferentemente al menos, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad en aminoácidos con la proteína de secuencia SEQ ID N° 16.

En ciertos modos de realización según la invención, para el segundo elemento genético de control (A/a), las características respectivas del alelo dominante (A) y del alelo recesivo (a) son las siguientes:

- el alelo dominante (A) consiste en un ácido nucleico (NA) que comprende:

(i) un polinucleótido regulador (PA) funcional en una planta dicotiledónea, y

(ii) un ácido nucleico cuya expresión es regulada por el polinucleótido regulador (PA), codificando dicho ácido nucleico la proteína ACS (aminociclopropano-carboxilato sintasa) de secuencia SEQ ID N° 3,

- el alelo recesivo (a) se distingue del alelo dominante (A) por un ácido nucleico no funcional y comprende:

(i) un polinucleótido regulador (Pa) cuya secuencia de nucleótidos comprende una inserción, una sustitución o una delección con respecto al ácido nucleico que va desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 5907 de la secuencia SEQ ID N° 1 y que conduce a una expresión reducida o nula de la proteína ACS de secuencia SEQ ID N° 3, o

(ii) un ácido nucleico (Na) que codifica una proteína que difiere de la proteína ACS de secuencia SEQ ID N° 3 por la sustitución, la inserción o la delección de uno o varios aminoácidos y que no posee la actividad biológica de dicha proteína ACS en dicha planta dicotiledónea.

La solicitud describe también polinucleótidos reguladores (PG) y (Pg) como tales.

La invención se refiere también a procedimientos de obtención de una planta transformada cuyo fenotipo sexual ha sido modificado, así como las partes de esta planta, particularmente sus semillas.

La invención tiene todavía por objeto la proteína CmWIP1 como se define más en detalle con posterioridad, o un fragmento de esta proteína, así como anticuerpos dirigidos contra la proteína CmWIP1.

La invención trata también de procedimientos para detectar la presencia de alelos (A), (a), (G) y (g) en una muestra.

Descripción de las figuras

La Figura 1 ilustra la clonación posicional del lugar g.

La Figura 1A ilustra los mapas físicos y genéticos del lugar (g) sobre el cromosoma 4. El lugar está bordeado por dos marcadores M261 y M335. Las líneas discontinuas indican la posición de estos marcadores genéticos en los diferentes clones BAC.

La Figura 1B ilustra la representación de 8 marcos abiertos de lectura o ORFs (flecha larga) que se encuentran en el BAC 102, con su predicción de orientación. La referencia triangular representa la inserción del transposón de ADN denominada Gyno-hAT cuya secuencia se describe en la SEQ ID N° 14. La inserción de este transposón es lo que induce la metilación del promotor del gen CmWIP1 y conduce a su inactivación.

La Figura 1C es una cartografía de alta resolución de dos acontecimientos críticos de recombinación en las proximidades del lugar g. Los polimorfismos SNP están indicados y los recombinantes P63.2 y 87.94 determinaron una región final de 1,4 kb.

La Figura 2 ilustra los resultados de la amplificación mediante PCR semicuantitativa sensible a la endonucleasa McrBr sobre el ADN del transposón insertado en el lugar g.

El cebador de sentido está localizado en la secuencia del transposón y el cebador de antisentido está localizado en la secuencia genómica que bordea el transposón. La amplificación mediante PCR sin digestión mediante endonucleasa del ADN genómico Gynadou dio lugar a una fuerte amplificación, que significa la presencia del transposón en ese lugar. La amplificación mediante PCR con predigestión por endonucleasa McrBC no muestra amplificación alguna, lo que indica un nivel muy elevado de metilación del transposón. No se obtuvo ninguna amplificación para PI124112 cualquiera que fuera el soporte, debido a que el transposón no fue insertado en el lugar G.

La Figura 3 ilustra el análisis de metilación en el lugar g.

La Figura 3A ilustra la amplificación PCR semicuantitativa sensible a McrBR sobre tres marcos abiertos de lectura o ORF, los más próximos al lugar para el genotipo monoico (G-) PI1214112 y el genotipo ginoico Gynadou (gg). La ausencia de amplificación con predigestión con McrBC indica la presencia de metilación del ADN. Los oligonucleótidos fueron diseñados con el fin de generar un amplicón que bordea el sitio de inicio de la transcripción predicho para cada OFR, que incluye una parte del promotor y una parte del primer exón.

La Figura 3B ilustra la metilación del ADN y la estructura del gen CmWIP1. Las flechas negras representan el sitio de inicio en la transcripción determinada mediante la técnica "5'RACE", los compartimentos negros representan dos exones, el símbolo después del segundo exón representa el fin de la secuencia "3'UTR", determinada mediante la técnica de "3'RACE".

La inserción del transposón está simbolizada en la zona sobre el extremo 3' del gen. La metilación del ADN en la secuencia completa de CmWIP1 se determinó mediante amplificación PCR cuantitativa sensible a McrBC. Cada valor corresponde a la media de al menos tres plantas, siendo realizada cada reacción PCR por triplicado.

- 5 La Figura 3C ilustra el análisis de metilación de las citosinas mediante secuenciado con bisulfito. Se amplificaron dos amplicones correspondientes a la parte altamente metilada del promotor después del tratamiento con bisulfito. El porcentaje de citosinas metiladas está indicado mediante barras verticales.

- 10 La figura 4 ilustra el análisis de metilación en el lugar g para diferentes fuentes genéticas de *C. melo*. W1998, Bulgarie14, Paul y Gynadou son homocigotos para el alelo g. PI161375 Vedrantaïs y PI124112 son homocigotos para el alelo G.

- 15 La Figura 4A ilustra el experimento mediante el cual la inserción del transposón en el lugar g fue seleccionada mediante amplificación por PCR en las diferentes fuentes genéticas. El cebador de sentido estaba localizado en la secuencia del transposón y el cebador de antisentido estaba localizado en la secuencia genómica que bordea el transposón con el fin de verificar la presencia de la inserción (línea superior), en la que los dos cebadores que bordean el sitio de inserción fueron utilizados con el fin de verificar la ausencia del transposón (línea inferior).

- 20 En la Figura 4A se representan los resultados de amplificación PCR semicuantitativa sensible a McrBr en el gen CmWIP1 en diferentes fuentes genéticas. La ausencia de amplificación después de una digestión con McrBc indica la presencia de la metilación del ADN.

- 25 La Figura 5 ilustra el análisis del perfil de expresión de ARN mensajero de CmWIP1. Los niveles de expresión de CmWIP1 se analizaron mediante PCR cuantitativa. Cada valor corresponde a la media de al menos tres plantas. Los niveles de expresión de CmWIP1 se normalizaron con los niveles de expresión de un gen unitario, el gen de actina.

- 30 La Figura 6 ilustra los resultados del análisis de los niveles de expresión de CmWIP1 analizados mediante PCR cuantitativa en un conjunto de yemas florales hasta la fase 6. Cada valor corresponde a la media de al menos tres plantas. Los niveles de expresión de CmWIP1 se normalizaron con los niveles de expresión de un gen ubicuo, el gen de la actina.

- 35 La Figura 7 ilustra la observación de fenotipos florales identificados mediante la técnica de TILLING. Las flores del tallo principal del mutante S306F como la del mutante P193L se compararon con una flor macho y una flor hembra de tipo salvaje de progenitor monoico. Las flores mutantes S306F como la del mutante P193L muestran claramente un desarrollo del ovario en la cuarta espiral. El mutante L77F es un mutante débil. Ow: ovario; St: estambre.

- 40 La Figura 8A presenta una alineación de un fragmento del ARN mensajero del gen ACS procedente de una planta que tiene el fenotipo (A) [línea superior] y de una planta que tiene el fenotipo (a) [línea inferior] e ilustra una mutación puntual de un nucleótido que diferencia (A) y (a).

- La Figura 8B representa una alineación de las secuencias de aminoácidos codificados por ácidos nucleicos de la Figura 8A, comprendiendo una planta que tiene un fenotipo (A) [línea superior] y una planta que tiene el fenotipo (a) [segunda línea] e ilustra una mutación puntual de un aminoácido que diferencia (A) y (a).

- 45 La Figura 9 representa micrografías de plantas transgénicas de *Arabidopsis thaliana* que portan el alelo de melón A o a. En las figuras 9A y 9B se muestra que las silicuas de las plantas transformadas con el alelo A (Fig. 9A- Cm-A y Fig. 9B) son más cortas que las silicuas de las plantas salvajes (Col-0) y las plantas transformadas con el alelo (a).

Descripción detallada de la invención

- 50 Según la presente invención, se ha identificado y caracterizado el determinante genético (G/g) que controla, en combinación con el determinante genético (A/a) anteriormente descrito en el estado de la técnica, el desarrollo del tipo floral en cucurbitáceas.

- 55 La identificación y la caracterización del determinante genético (G/g) proporciona por primera vez a un experto en la técnica la posibilidad de seleccionar o generar plantas dicotiledóneas que tienen un fenotipo sexual deseado, en particular cucurbitáceas como el melón que tiene el fenotipo sexual deseado.

- 60 Se debe recordar que el alelo (A) controla el carácter andromonoico de las plantas y el alelo (G) controla el carácter ginoico de las plantas, como se ilustra en la Tabla 1 siguiente.

Tabla 1

Fenotipo	Genotipo	Tipo de flores
Monoico	A-G-	Machos y hembras

Andromonoico	aaG-	Machos y hermafroditas
Hermafrodita	aagg	Hermafroditas
Ginoico	A-gg	Hembras

La Tabla 1 ilustra la correspondencia entre el genotipo y el fenotipo sexual de las flores de plantas dicotiledóneas.

Los inventores han mostrado ahora que, fisiológicamente, los dos alelos (G) y (g), que han sido identificados y caracterizados según la invención se distinguen en las proporciones diferentes de una nueva proteína, la proteína CmWIP1. Realizando comparaciones de secuencias con proteínas conocidas, los inventores han mostrado que la nueva proteína CmWIP1 podía ser clasificada en la familia de las proteínas de dedos de zinc de tipo WIP que se encuentran en una gran variedad de plantas, comprendidas las dicotiledóneas, monocotiledóneas, gimnospermas y los musgos.

Desde un punto de vista genético, los inventores han mostrado que el alelo (g) se distingue del alelo (G) en el nivel reducido de proteína CmWIP1 en la planta, en comparación con una planta que porta un alelo (G) o bien por la producción de una proteína CmWIP1 mutada con respecto a la proteína CmWIP1 producida por una planta que porta un alelo (G).

Los inventores han mostrado también que el alelo (G) es dominante sobre el alelo (g).

Como ya se ha precisado con anterioridad, ya se había mostrado en el estado de la técnica que, fisiológicamente, los dos alelos (A) y (a) se distinguen en las proporciones diferentes de actividad enzimática de una proteína, la aminociclopropano-carboxilato sintasa también denominada ACS, que es una proteína implicada en la síntesis de etileno.

No obstante, diferentes estudios han mostrado que los genes de la biología floral de las cucurbitáceas codifican proteínas implicadas en la vía de biosíntesis o de regulación de etileno (Kamachi et al., 1997; Kahana et al., 2000).

Se mostró también con anterioridad que el alelo (a) se distingue fisiológicamente del alelo (A) por el nivel reducido de actividad enzimática de proteína ACS en la planta, en comparación con una planta que porta un alelo (A).

Se mostró también que el alelo (A) se expresa en los primordios de los carpelos y es esta expresión la que bloquea el desarrollo de los estambres. La ausencia de expresión del alelo A o la expresión de una forma mutada de la proteína procedente de selecciones TILLING, por ejemplo, o de la proteína procedente del alelo que porta la mutación A57V no bloquea el desarrollo de los estambres. Finalmente, se mostró también que el alelo (A) es dominante sobre el alelo (a).

Aunque no se desean vinculaciones teóricas, los inventores estiman que las síntesis de control del desarrollo del tipo floral mediante una combinación de alelos del gen (G/g) y (A/a) puede ser generalizado a la familia de las dicotiledóneas, comprendida la familia de las cucurbitáceas.

Por tanto, el solicitante describe una combinación de dos elementos genéticos y su utilización para el control del desarrollo del tipo floral de una planta dicotiledónea, comprendiendo, respectivamente dicha combinación:

a) un primer elemento genético de control (A/a) presente en dicha planta dicotiledónea, en forma de un alelo dominante (A) y un alelo recesivo (a), en el cual:

- el alelo dominante (A) consiste en un ácido nucleico (NA) que permite la expresión de la proteína ACS (aminociclopropano-carboxilato sintasa), preferentemente la proteína ACS de secuencia SEQ ID N° 3

- el alelo recesivo (a), se distingue del alelo dominante en un ácido nucleico (NA) no funcional en dicha planta dicotiledónea y

b) un segundo elemento genético de control (G/g) presente en dicha planta dicotiledónea, en forma de un alelo dominante (G) y un alelo recesivo (g), en el cual:

- el alelo dominante (G) consiste en un ácido nucleico (NG) que permite la expresión de la proteína CmWIP1, preferentemente la proteína CmWIP1 de secuencia SEQ ID N° 12,

- el alelo recesivo (g) se distingue del alelo dominante en un ácido nucleico (NG) no funcional en dicha planta dicotiledónea,

debiendo entenderse que al menos el segundo elemento genético de control ha sido artificialmente introducido en dicha planta dicotiledónea.

El ácido nucleico (NA) no funcional que caracteriza el alelo (a) abarca (i) un ácido nucleico que codifica una proteína distinta de la proteína de SEQ ID N° 3, que comprende la proteína mutada A57V, (ii) o cualquier otra forma de proteína mutada con respecto a la proteína de secuencia SEQ ID N° 3 y que conduce a una enzima inactiva, (ii) o incluso otras ACS no funcionales (iv) o incluso un alelo no expresado.

Se describe particularmente según la invención la utilización de una combinación de dos elementos genéticos según la reivindicación 1, caracterizada porque:

- el alelo dominante (A), que consiste en un ácido nucleico (NA), comprende:

(i) un polinucleótido regulador (PA) funcional en una planta dicotiledónea, y

(ii) un ácido nucleico cuya expresión está regulada por el polinucleótido regulador (PA), codificando dicho ácido nucleico la proteína ACS (aminociclopropano-carboxilato sintasa) de secuencia SEQ ID N° 3,

- el alelo recesivo (a) no funcional se distingue del alelo dominante en un ácido nucleico no funcional y comprende:

(i) un polinucleótido regulador (Pa) cuya secuencia de nucleótidos comprende una inserción, una sustitución o una delección con respecto al ácido nucleico que va desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 5907 de la secuencia SEQ ID N° 1 y que conduce a una expresión reducida o nula de la proteína ACS de la secuencia SEQ ID N° 3,

(ii) un ácido nucleico (Na) que codifica una proteína que difiere de la proteína ACS de secuencia SEQ ID N° 3 en la sustitución, la inserción o la delección de uno o varios aminoácidos y que no posee la actividad biológica de dicha proteína ACS en dicha planta dicotiledónea, y

- el alelo dominante (G), que consiste en un ácido nucleico (NG), comprende:

(i) un polinucleótido regulador (PG) funcional en una planta dicotiledónea, y

(ii) un ácido nucleico cuya expresión está regulada por el polinucleótido regulador (PG), codificando dicho ácido nucleico la expresión de la proteína CmWIP1 («*C. melo Zinc Finger Protein*») de secuencia SEQ ID N° 12,

- el alelo recesivo no funcional (g) se distingue del alelo dominante (G) en un ácido nucleico no funcional y comprende:

(i) un polinucleótido regulador (Pg) cuya secuencia de nucleótidos comprende al menos una mutación, una inserción o una delección con respecto al ácido nucleico de secuencia SEQ ID N° 13, conduciendo dicho ácido nucleico a una expresión reducida o nula de la proteína CmWIP1 de secuencia SEQ ID N° 12 o

(ii) un ácido nucleico (Ng) que codifica una proteína que difiere de la proteína CmWIP1 de secuencia SEQ ID N° 12 en la sustitución, la inserción o la delección de uno o varios aminoácidos y que no posee la actividad biológica de dicha proteína CmWIP1 en dicha planta dicotiledónea.

La combinación de los dos elementos genéticos que se describe con anterioridad permite controlar y/o modificar el sexo de las flores de plantas dicotiledóneas y, por tanto, es muy ventajosa con respecto a los sistemas de control mecánicos, a menudo costosos, o químicos, a menudo tóxicos, utilizados en la técnica anterior.

Mediante "alelo" se entiende, en el sentido de la presente invención, una de las formas de un gen que ocupa un sitio o lugar en un par de cromosomas homólogos. Los alelos de un gen se refieren al mismo rasgo genético, pero pueden determinar fenotipos diferentes.

Un alelo dominante es un alelo cuyo nivel de expresión fenotípico es mucho más considerable que el del alelo homólogo (denominado recesivo). El dominio puede ser completo o parcial.

Un alelo recesivo es un alelo que solo se expresa en el fenotipo cuando la planta recibe alelos idénticos de cada uno de sus dos progenitores. Por el contrario, la expresión del alelo recesivo es enmascarada si está presente el alelo homólogo dominante.

Por tanto, la combinación anteriormente definida existe en forma de diferentes estados que corresponde cada uno a un fenotipo.

Cuando el primer elemento genético de control (A/a) presente en una planta dicotiledónea está en forma de alelo (A) la planta es de fenotipo monoico o ginoico.

Cuando el primer elemento genético de control (A/a) presente en una planta está en forma de alelo (aa), la planta es

de fenotipo hermafrodita o andromonoico.

Cuando el segundo elemento genético de control (G/g) presente en una planta dicotiledónea está en forma de alelo (G), la planta es de fenotipo monoico o andromonoico.

Cuando el segundo elemento genético de control (G/g) presente en una planta está en forma de alelo (gg), la planta es de fenotipo hermafrodita o ginoico.

La correspondencia entre alelos y fenotipos está resumida en la Tabla 1.

En ciertos modos de realización de la combinación según la invención, para el segundo elemento genético de control (G/g), las características respectivas del alelo dominante (G) y el alelo recesivo (g) son las siguientes:

- el alelo dominante (G) consiste en un ácido nucleico (NG) que comprende:

(i) un polinucleótido regulador (PG) funcional en una planta dicotiledónea, y

(ii) un ácido nucleico cuya expresión es regulada por el polinucleótido regulador (PG), codificando dicho ácido nucleico la proteína CmWIP1 ("*C. melo Zinc Finger Protein*") de secuencia SEQ ID N° 12,

- el alelo recesivo (g) se distingue del alelo dominante (G) en:

(i) un ácido nucleico (NG) no presente en la planta, o

(ii) un polinucleótido regulador (Pg) no funcional en una planta dicotiledónea, o

(iii) un ácido nucleico (Ng) no funcional para la expresión de una proteína CmWIP1 activa.

En ciertos modos de realización de la combinación según la invención, para el primer elemento genético de control (A/a), las características respectivas del alelo dominante (A) y el alelo recesivo (a) son las siguientes:

- el alelo dominante (A) consiste en un ácido nucleico (NA), que comprende:

(i) un polinucleótido regulador (PA) funcional en una planta dicotiledónea, y

(ii) un ácido nucleico cuya expresión es regulada por el polinucleótido regulador (PA), codificando dicho ácido nucleico la proteína ACS (aminociclopropano-carboxilato sintasa) de secuencia SEQ ID N° 3,

- el alelo recesivo (a) se distingue del alelo dominante (A) en:

(i) un ácido nucleico (NA) no presente en la planta, o

(ii) un polinucleótido regulador (Pa) no funcional en una planta dicotiledónea, o

(iii) un ácido nucleico (Na) no funcional para la expresión de una proteína ACS activa.

Lo que sigue de la descripción expone variantes o modos de realización preferidos de los primero y segundos elementos genéticos de control que forman parte del sistema de control objeto de la invención.

Elemento genético de control G/g, en forma de alelo dominante (G), en la combinación de dos elementos genéticos según la invención.

De forma general, el elemento genético de control G/g, presente en una planta en forma de Alelo dominante (G), permite obtener un nivel más elevado de proteína CmWIP1, con respecto al nivel observado cuando no está presente el alelo (G) en dicha planta.

En lo que sigue de la descripción, se considera que un "nivel elevado" de proteína CmWIP1 corresponde al nivel medio de proteína CmWIP1 medida en una planta que comprende el alelo dominante G sin su genoma y un "nivel reducido" de proteína CmWIP1 corresponde al nivel medio de proteína CmWIP1 observada en una planta que no comprende el alelo dominante (G) en su genoma.

El alelo dominante (G) consiste en un ácido nucleico (NG) que comprende:

(i) un polinucleótido regulador (PG) funcional en una planta dicotiledónea, y

(ii) un ácido nucleico cuya expresión es regulada por el polinucleótido regulador (PG), codificando dicho ácido

nucleico la proteína CmWIP1 de secuencia SEQ ID N° 12.

- Polinucleótido regulador (PG) funcional

- 5 Un polinucleótido regulador o promotor (PG) funcional según la invención consiste en un ácido nucleico que permite la expresión de la proteína CmWIP1 de secuencia SEQ ID N° 12 en plantas dicotiledóneas.

Un modo de ejemplo de este promotor comprende o consiste en el ácido nucleico de secuencia SEQ ID N° 13, que está localizado desde el nucleótido en posición 1 hasta el nucleótido en posición 2999 del ácido nucleico del gen CmWIP1 de secuencia SEQ ID N° 10.

Por tanto, en los modos de realización de la combinación de los dos elementos genéticos de la invención en los que el segundo elemento genético consiste en el alelo G, el polinucleótido regulador (PG) puede consistir en un polinucleótido que comprende o que consiste en (i) una secuencia de nucleótidos que va desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 2999 de secuencia SEQ ID N° 10 o (ii) una secuencia que tiene al menos un 90% de identidad de nucleótidos con la secuencia 1-2999 de SEQ ID N° 10 y que es funcional o (iii) un fragmento de secuencias (i) y (ii) precedentes y que es funcional.

La invención tiene también por objeto el polinucleótido regulador (PG) como tal, definido con anterioridad, así como fragmentos de este ácido nucleico, como se describirá más en detalle en la parte titulada "ácidos nucleicos según la invención".

Un polinucleótido regulador (PG) funcional según la invención puede consistir también en un promotor conocido para digerir la expresión de las secuencias de ácido nucleico que codifica la proteína CmWIP1 de forma constitutiva o de forma de tejido específico.

Un polinucleótido regulador (PG) funcional según la invención puede ser escogido por tanto entre promotores de tejidos específicos como los de los genes de la familia de "MADS box" de clase A B C D y E, como se describe por Theißen et al., 2001 o cualquier otro promotor de genes homeóticos.

Un polinucleótido regulador (PG) funcional según la invención puede ser escogido entre:

- el promotor 35S del virus del mosaico de la coliflor o el promotor 19S o, ventajosamente, el promotor constitutivo doble 35S (pd35S) descritos en el artículo de Kay et al., 1987;

- el promotor de actina de ri3 seguido del intrón actina de ri3 (pAR-IAR) contenido en el plásmido pAct1F4 descrito por Mc Elroy et al., 1991;

- el promotor constitutivo EF-1α del gen que codifica el factor de alargamiento vegetal descrito en la solicitud PCT n° WO 90/02172 o incluso en el artículo de AXELOS et al. (1989);

- el superpromotor quimérico PSP (NI et al., 1995) constituido por la fusión de tres copias de elemento de actividad transcripcional del promotor del gen de la octopina sintasa de *Agrobacterium tumefaciens* y del elemento de activación de la transcripción del promotor del gen de la manopina sintasa de *Agrobacterium tumefaciens*;

- el promotor ubiquitina de girasol (BINET et al., 1991);

- el promotor de ubiquitina 1 del maíz (CHRISTENSEN et al., 1996).

50 Un polinucleótido regulador (PG) funcional según la invención puede consistir también en un promotor inducible.

Por tanto, la invención tiene por objeto una combinación de dos elementos genéticos para el control del tipo floral de una planta dicotiledónea, como se define con anterioridad, en la que el polinucleótido regulador (PG) es sensible a la acción de una señal inductora y, preferentemente, en la que el polinucleótido regulador (PG) es un polinucleótido activador inducible de la transcripción o de la traducción.

Cuando el polinucleótido regulador activador de la transcripción o de la traducción es sensible, directa o indirectamente, a la acción de una señal inductora activadora, se trata de un polinucleótido "activador inducible" en el contexto de la invención.

Según la invención, un polinucleótido regulador de tipo "activador inducible" es una secuencia reguladora que solo es activada en presencia de una señal externa. Esta señal externa puede ser la fijación de un factor de transcripción, pudiendo ser inducida la fijación de un factor de transcripción bajo el efecto de la señal inductora activadora a la que el polinucleótido regulador es sensible de forma directa o indirecta.

Cuando esta construcción de ácidos nucleicos es utilizada en un hospedante celular, la expresión del polinucleótido

que codifica la proteína CmWIP1 según la invención puede ser inducida poniendo en contacto el hospedante celular transformado con la señal inductora activadora a la que el polinucleótido regulador es sensible de forma directa o indirecta.

- 5 Cuando se busca la ausencia de expresión del polinucleótido que codifica un polipéptido CmWIP1 en este hospedante celular transformado, es suficiente entonces eliminar o suprimir la presencia de la señal inductora activadora a la que es sensible el polinucleótido regulador de la transcripción o de la traducción.

- 10 El experto en la técnica podrá recurrir a sus conocimientos generales técnicos en el campo de los polinucleótidos reguladores, en particular los activos en plantas, para definir las construcciones que responden a la definición del modo de realización que antecede.

La secuencia reguladora capaz de controlar el ácido nucleico que codifica una proteína CmWIP1 puede ser una secuencia reguladora inducible por un metabolito particular, como:

- 15 - una secuencia reguladora inducible por glucocorticoides como se describe por AOYAMA et al. (1997) o la descrita por McNELLYS et al. (1998);

- 20 - una secuencia reguladora inducible por etanol, como la descrita por SALTER et al. (1998) o incluso la descrita por CADDICK et al. (1998);

- una secuencia reguladora inducible por tetraciclina como la comercializada por la empresa CLONTECH;

- 25 - una secuencia de promotor inducible por un agente patógeno o por un metabolito producido por un agente patógeno;

- una secuencia reguladora de genes de tipo PR, inducible por ácido salicílico o BTH o Aliette (Gorlach et al., 1996, Molina et al., 1998);

- 30 - una secuencia reguladora de tipo receptor Ecdysone (Martinez et al., 1999) inducible por tebufenozida (referencia de producto RH5992, comercializado por la empresa ROHM & HAAS), por ejemplo, perteneciente al grupo de las dibenzoilhidrazina.

- Ácidos nucleicos que codifican la proteína CmWIP1

- 35 Preferentemente, el ácido nucleico que codifica la proteína CmWIP1 comprende, en el extremo 5' hacia el extremo 3', al menos:

- 40 (i) una secuencia que tiene al menos un 95% de identidad con el polinucleótido que va desde el nucleótido 3000 hasta el nucleótido 3617 de la SEQ ID N° 10, y

(ii) una secuencia que tiene al menos un 95% de identidad con el polinucleótido que va desde el nucleótido 5458 hasta el nucleótido 5901 de la SEQ ID N° 10.

- 45 En otros modos de realización, el ácido nucleico que codifica la proteína CmWIP1 comprende la secuencia de nucleótidos SEQ ID N° 11.

Elemento genético de control G/g en forma de alelo recesivo (g) del sistema según la invención

- 50 De forma general, el elemento genético de control (G/g) en forma de alelo recesivo (g), cuando está presente en una planta que no posee el alelo dominante (G) en su genoma, no permite obtener un nivel de proteína CmWIP1 tan elevada como la obtenida cuando está presente el alelo (G).

- 55 Por tanto, se puede definir el alelo (g) como cualquier alteración del genotipo correspondiente al alelo (G), que no permite obtener un nivel de CmWIP1 tan elevado como el alelo (G).

El alelo recesivo (g) se distingue del alelo dominante (G) en:

- 60 (i) un ácido nucleico (NG) no presente en la planta, o

(ii) un polinucleótido regulador (Pg) no funcional en una planta dicotiledónea, o

(iii) un ácido nucleico (Ng) no funcional para la expresión de una proteína de CmWIP1 no activa.

- 65 Como ejemplo, un modo de realización de un elemento de control G/g en forma de alelo recesivo (g) es ilustrado por el ácido nucleico de secuencia SEQ ID N° 15, que es un alelo de la secuencia que codifica CmWIP1 en el que está

presente un ácido nucleico transposón denominado "Gyno-hAT". En el ácido nucleico de secuencia SEQ ID N° 15, el transposón Gyno-hAT está localizado desde el nucleótido en posición 7167 hasta el nucleótido en posición 15412 de la secuencia SEQ ID N° 15.

- 5 En el ácido nucleico de secuencia SEQ ID N° 14, el transposón Gyno-hAT está localizado desde el nucleótido en posición 10 hasta el nucleótido en posición 8246 de la secuencia SEQ ID N° 14.

- *Polinucleótido regulador (Pg) no funcional*

- 10 Un polinucleótido regulador (Pg) o promotor no funcional según la invención es un ácido nucleico que:

(i) no permite la expresión de la proteína CmWIP1 de secuencia SEQ ID N° 12 en una célula hospedante, o

- 15 (ii) permite la expresión de esta proteína a un nivel bajo en comparación con el nivel observado con el polinucleótido regulador (PG), o

(iii) permite la expresión de la proteína CmWIP1 en el transcurso de la vida de la planta, durante un período inferior, en comparación con el observado con el polinucleótido regulador (PG).

- 20 En ciertos modos de realización del polinucleótido regulador (Pg) no funcional, dicho polinucleótido (Pg) está metilado. Por ejemplo, el polinucleótido regulador (Pg) puede consistir en un polinucleótido regulador (PG) que se presenta en forma de un ácido nucleico metilado.

- 25 Mediante "ácido nucleico metilado" o "polinucleótido regulador metilado" se entiende según la invención el ácido nucleico correspondiente cuya relación (número de bases metiladas)/(número de bases no metiladas) es de al menos 5/1. Por tanto, según la invención, un ácido nucleico metilado abarca un ácido nucleico que posee una relación (número de bases metiladas)/(número de bases no metiladas) de al menos 6/1, 7/1, 8/1, 9/1, 10/1, 11/1, 12/1, 13/1, 14/1, 15/1, 16/1, 17/1, 18/1 y 20/1.

- 30 La determinación de la relación (número de bases metiladas) / (número de bases no metiladas) se puede realizar fácilmente por un experto en la técnica mediante cualquier técnica conocida. El experto en la técnica puede utilizar, en particular, el método de secuenciado con bisulfito, como se describe en los ejemplos de la presente descripción.

- 35 Para comparar el nivel de expresión de varios promotores, una técnica sencilla, conocida por un experto en la técnica, consiste en colocar un gen marcador de selección bajo el control de los promotores que van a ser ensayados. Un gen marcador de selección puede ser, por ejemplo, el gen de resistencia al herbicida BASTA, bien conocido por un experto en la técnica.

- 40 Otra técnica puede consistir en medir el nivel de proteína CmWIP1 obtenida cuando la secuencia que codifica esta proteína está bajo el control de diferentes promotores, utilizando anticuerpos dirigidos al encuentro de esta proteína, y los procedimientos descritos en la parte "polipéptidos según la invención".

- 45 Como ya se ha mostrado en los ejemplos, una ilustración de un promotor (Pg) no funcional consiste en un promotor que tiene una secuencia de nucleótidos igual a la secuencia de nucleótidos de un promotor funcional (PG) pero que se presenta *in cellulo* o *in vivo* bajo una forma metilada no funcional. En un modo de realización específico ilustrado en los ejemplos, el estado metilado del promotor (Pg) es provocado por la presencia de un elemento equivalente (TE) localizado a una distancia inferior a 1 kilobase del extremo 3' del gen CmWIP1.

- 50 Un polinucleótido (Pg) no funcional puede ser también cualquier polinucleótido derivado del polinucleótido (PG) como se define con anterioridad, cuya secuencia de nucleótidos comprende una inserción, una sustitución o una delección de uno o varios nucleótidos, con respecto a la secuencia de nucleótidos del polinucleótido regulador.

- 55 Por tanto, la invención tiene también por objeto un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que porta al menos una alteración escogida entre una mutación, una inserción o una delección, con respecto al ácido nucleico que va desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 2999 de la secuencia SEQ ID N° 10, conduciendo dicho ácido nucleico alterado a una expresión reducida de la proteína CmWIP1, cuando controla la expresión de dicha proteína, con respecto a la expresión de la proteína CmWIP1 controlada por el ácido nucleico que va desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 2999 de la secuencia SEQ ID N° 10.

- 60 La invención tiene también por objeto el polinucleótido regulador (Pg) como tal, como se define con anterioridad.

La invención tiene también por objeto un ácido nucleico que comprende un polinucleótido regulador (Pg) y un ácido nucleico que codifica la proteína CmWIP1 de SEQ ID N° 12.

- 65 La invención tiene también por objeto una combinación de dos elementos genéticos para el control del desarrollo del tipo floral de una planta dicotiledónea como se define de forma general en la presente invención, en la que el

polinucleótido regulador (Pg) es sensible a la acción de una señal inductora y, preferentemente, en que el polinucleótido regulador (Pg) es un polinucleótido represor inducible de la transcripción o la traducción.

Mediante polinucleótido regulador "represor" se entiende, según la invención, una secuencia reguladora cuya actividad constitutiva puede ser bloqueada mediante una señal externa. Esta señal externa puede ser la ausencia de fijación de un factor de transcripción reconocido por el polinucleótido regulador represor. La ausencia de fijación del factor de transcripción puede ser inducida bajo el efecto de la señal inductora represora a la que es sensible el polinucleótido regulador represor.

Según este primer modo de realización particular, la expresión de la secuencia que codifica de una proteína CmWIP1 es constitutiva en el hospedante celular escogido, en ausencia de la señal inductora represora a la que el polinucleótido regulador represor es directa o indirectamente sensible.

El contacto del hospedante celular con la señal inductora represora tiene como efecto, gracias a una acción directa o indirecta sobre el polinucleótido regulador represor, inhibir y/o bloquear la expresión del polinucleótido que codifica la proteína CmWIP1.

Para realizar las construcciones de ADN según la invención que comprenden un polinucleótido regulador represor, el experto en la técnica podrá recurrir a sus conocimientos generales técnicos en el campo de la expresión de genes en plantas.

Un procedimiento de obtención de una planta transformada, utilizando este tipo de polinucleótido regulador, se describe en la parte titulada "procedimientos de obtención de una planta transformada según la invención".

- Ácido nucleico (Ng) no funcional para la expresión de una proteína CmWIP1 activa

Un ácido nucleico (Ng) abarca los ácidos nucleicos que comprenden al menos una parte de una secuencia que codifica una proteína CmWIP1 activa pero que no permite, cuando son colocados bajo el control de un polinucleótido regulador funcional en células de plantas dicotiledóneas, la producción de dichas plantas de una proteína CmWIP1 activa.

Un ácido nucleico (Ng) abarca esencialmente los ácidos nucleicos (NG) en los que están presentes una o varias mutaciones en al menos un intrón o exón, siendo escogida cada mutación entre (i) la sustitución de un nucleótido o más de un nucleótido, (ii) la delección de un nucleótido o de al menos dos nucleótidos consecutivos y (iii) la delección de un nucleótido o de al menos dos nucleótidos consecutivos, con respecto al ácido nucleico (NG) de referencia. Un ácido nucleico (Ng) abarca en particular los ácidos nucleicos que codifican una proteína CmWIP1 no activa.

Por ácido nucleico que codifica una proteína CmWIP1 no activa se entiende, en el sentido de la presente invención, un ácido nucleico que codifica una proteína que difiere de la proteína CmWIP1 de secuencia SEQ ID N° 12 en la sustitución, la delección o la inserción de uno o varios aminoácidos, y que no posee la actividad biológica de la proteína CmWIP1 de secuencia SEQ ID N° 12.

Está igualmente abarcado un ácido nucleico que codifica una proteína que difiere de la proteína CmWIP1 de secuencia SEQ ID N° 16 en la sustitución, la delección o la inserción de uno o varios aminoácidos y que no posee la actividad biológica de la proteína CmWIP1 de secuencia SEQ ID N° 16.

En particular, esta proteína CmWIP1 no activa, cuando es expresada en una planta que no expresa proteína CmWIP1 activa, en particular proteína CmWIP1 de secuencia SEQ ID N° 12, o de proteína CmWIP1 de secuencia SEQ ID N° 16, induce, respectivamente:

- un fenotipo de planta hermafrodita en combinación con la presencia en forma de homocigoto de alelos (a/a) en dicha planta,

- un fenotipo de planta hembra en combinación con (i) la presencia en forma de homocigoto de alelos (A/A) en dicha planta o en combinación con (ii) la presencia en forma de heterocigoto de alelos (A/a) en dicha planta.

Se ha mostrado en los ejemplos que plantas que poseen el alelo (g) del elemento genético (G/g) eran obtenidos con ácidos nucleicos que codifican una proteína CmWIP1 inactiva. En particular se ha mostrado en los ejemplos que plantas que poseen el alelo (g) del elemento genético (G/g) eran obtenidas con ácidos nucleicos que codifican una proteína CmWIP1 que posee una sustitución de un solo nucleótido con relación a la secuencia de nucleótidos SEQ ID N° 11 que codifica la proteína CmWIP1 de secuencia SEQ ID N° 12.

Con carácter ilustrativo, se han mostrado en los ejemplos plantas que poseen el alelo (g) y cuyo ácido nucleico correspondiente codifica una proteína CmWIP1 mutada que posee una sustitución de un ácido escogido entre L77F, P193L y S306F, según la numeración de aminoácidos utilizadas para la SEQ ID N° 12.

El elemento genético de control A/a, en forma de alelo dominante (A) o en forma de alelo dominante (a) ha sido ya descrito en la solicitud de patente francesa nº FR 2900415 y en la solicitud PCT nº WO 2007/125264.

No obstante, debido a que el elemento genético de control (A/a) es un elemento importante de la combinación de dos elementos genéticos para el control del desarrollo del tipo floral según la invención, sus características principales se describen nuevamente a continuación.

Elemento genético de control A/a, en forma de alelo dominante (A) de la combinación según la invención

De forma general, el elemento genético de control A/a, presente en una planta en la forma de alelo dominante (A), permite obtener un nivel más elevado de proteína ACS activa, con respecto al nivel observado cuando el alelo (A) no está presente en dicha planta.

En lo que sigue de la descripción, se considera que un "nivel elevado" de proteína ACS corresponde al nivel medio de ACS medido en una planta que comprende el alelo dominante (A) en su genoma y que un "nivel bajo" de proteína ACS corresponde al nivel medio de proteína ACS activa observada en una planta que no comprende el alelo dominante (A) en su genoma. Un nivel bajo de proteína ACS abarca un nivel nulo de proteína ACS activa, por ejemplo, en el caso de una expresión de ACS no activa, comprendido el producto del alelo a que porta la mutación A57V.

El alelo dominante (A) consiste en un ácido nucleico (NA) que comprende:

(i) un polinucleótido regulador (PA) funcional en una planta dicotiledónea; y

(ii) un ácido nucleico cuya expresión es regulada por el polinucleótido regulador (PA) codificando dicho ácido nucleico la proteína ACS de secuencia SEQ ID Nº 3.

- Polinucleótido regulador (PA) funcional

Un polinucleótido regulador o promotor (PA) funcional según la invención consiste en un ácido nucleico que permite la expresión de la proteína ACS de secuencia SEQ ID Nº 3 en plantas dicotiledóneas.

Como ejemplo, este promotor comprende una secuencia de nucleótidos que va desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 5906 de la secuencia SEQ ID Nº 1.

Por tanto, en los modos de realización de la combinación de dos elementos genéticos de la invención en los que el primer elemento genético consiste en el alelo A, el polinucleótido regulador (PA) puede consistir en polinucleótido que comprende o consiste en (i) una secuencia de nucleótidos que va desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 5906 de la secuencia SEQ ID Nº 1 o (ii) una secuencia que tiene al menos un 90% de identidad de nucleótidos con la secuencia 1-5906 de SEQ ID Nº 1 y que está funcionalizada o (iii) un fragmento de las secuencias (i) y (ii) anteriores que es funcional.

Por tanto, en ciertos modos de realización de la combinación de dos elementos genéticos de la invención, el polinucleótido regulador (PA) comprende o consiste en una secuencia de nucleótidos que va desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 5906 de la secuencia SEQ ID Nº 1.

Un polinucleótido regulador (PA) funcional que está incluido en una combinación de dos elementos genéticos según la invención puede consistir también en un promotor conocido para dirigir la expresión de la secuencia de ácidos nucleicos que codifica la proteína ACS de forma constitutiva o de forma de tejido específico.

Un polinucleótido regulador (PA) funcional incluido en una combinación de dos elementos genéticos según la invención puede ser escogido por tanto entre uno cualquiera de los promotores constitutivos o específicos de tejidos descritos anteriormente para ciertos modos de realización del polinucleótido regulador (PG).

Un polinucleótido regulador (PA) funcional según la invención puede consistir también en un promotor inducible.

Por tanto, la invención tiene por objeto una combinación de dos elementos genéticos como se definen con anterioridad, en la que el polinucleótido regulador (PA) es sensible a la acción de una señal inductora y, preferentemente, en el que el polinucleótido regulador (PA) es un polinucleótido activador inducible de la transcripción o de la traducción, que puede ser escogido entre uno cualquiera de los polinucleótidos activadores inducibles descritos en ciertos modos de realización del polinucleótido regulador (PG).

Cuando esta construcción de ácidos nucleicos se utiliza en un hospedante celular, la expresión del polinucleótido que codifica la proteína ACS según la invención puede ser inducida poniendo en contacto el hospedante celular transformado con la señal inductora activadora a la que el polinucleótido regulador activador es directa o indirectamente sensible.

Cuando se busca la ausencia de expresión del polinucleótido que codifica un polipéptido ACS en este hospedante celular transformado, es suficiente entonces con eliminar o suprimir la presencia de la señal inductora activadora a la que es sensible el polinucleótido regular de la transcripción o de la traducción.

5 El experto en la técnica podrá recurrir así a sus conocimientos técnicos generales en el campo de los polinucleótidos reguladores, en particular lo activos en vegetales, para definir las construcciones que se ajustan a la definición del modo de realización anterior y, en particular, las descritas para el polinucleótido regulador (PG).

10 - Ácidos nucleicos que codifican la proteína ACS

Preferentemente, el ácido nucleico que codifica la proteína ACS comprende, desde el extremo 5' hacia el extremo 3', al menos:

15 (i) una secuencia que tiene al menos un 95% de identidad con el polinucleótido que va desde el nucleótido 9507 hasta el nucleótido 6086 de la secuencia SEQ ID N° 1,

(ii) Una secuencia que tiene al menos un 95% de identidad con el polinucleótido que va desde el nucleótido 6181 hasta el nucleótido 6467 de la secuencia SEQ ID N° 1, y

20 (iii) una secuencia que tiene al menos un 95% de identidad con el polinucleótido que va desde el nucleótido 7046 hasta el nucleótido 7915 de la secuencia SEQ ID N° 1.

Elemento genético de control A/a, en forma de alelo recesivo (a) de la combinación según la invención

25 De forma general, el elemento genético de control (A/a) en forma de alelo recesivo (a), cuando está presente en una planta que no posee el alelo dominante (A) en su genoma, permite obtener un nivel de proteína ACS tan elevado como el obtenido cuando está presente el alelo (A).

30 Por tanto, se puede definir el alelo (a) como cualquier alteración del genotipo correspondiente al alelo (A), que no permite obtener un nivel de ACS activo.

El alelo recesivo (a) se distingue del alelo dominante (A) en:

35 (i) un ácido nucleico (NA) no presente en la planta, o

(ii) un polinucleótido regulador (Pa) no funcional en una planta dicotiledónea, o

(iii) un ácido nucleico que codifica una proteína ACS no activa, o

40 (iv) un polinucleótido regulador (Pa) no funcional en una planta dicotiledónea y un ácido nucleico que codifica una proteína ACS no activo.

- Polinucleótido regulador (Pa) no funcional

45 Un polinucleótido regulador (Pa), o promotor no funcional según la invención, es un ácido nucleico que:

(i) no permite la expresión de la proteína ACS de secuencia SEQ ID N° 3 en una célula hospedante,

50 (ii) permite la expresión de esta proteína a un nivel bajo en comparación con el nivel observado con el polinucleótido regulador (PA), o

(iii) permite la expresión de la proteína ACS en el transcurso de la vida de la planta, durante un período inferior, en comparación con la observada con el polinucleótido regulador (PA).

55 En ciertos modos de realización del polinucleótido regulador (Pa) no funcional), dicho polinucleótido (Pa) está metilado. Por ejemplo, el polinucleótido regulador (Pa) puede consistir en un polinucleótido regulador (PA) que está presente en forma de un ácido nucleico metilado.

60 Mediante "ácido nucleico metilado" o "polinucleótido regulador metilado" se entiende según la invención, el ácido nucleico correspondiente cuya relación (número de bases metiladas)/(número de bases no metiladas) es de al menos 5/1- Por tanto, según la invención, un ácido nucleico metilado abarca un ácido nucleico que posee una relación (número de bases metiladas)/(número de bases n metiladas) de al menos 6/1, 7/1, 8/1, 9/1, 10/1, 11/1, 12/1, 13/1, 14/1, 15/1, 16/1, 17/1, 18/1 y 20/1.

65 La determinación de la relación (número de bases metiladas)/(número de bases no metiladas) se puede realizar

fácilmente por un experto en la técnica mediante cualquier técnica conocida. El experto en la técnica puede utilizar particularmente el método de secuenciado con bisulfito, como se describe en los ejemplos de la presente invención.

Para comparar el nivel de expresión de varios promotores, una técnica sencilla, conocida por un experto en la técnica, consiste en colocar un gen marcador de selección bajo el control de los promotores que van a ser ensayados. Un gen marcador de selección puede ser, por ejemplo, el gen de resistencia al herbicida BASTA, bien conocido por un experto en la técnica.

Otra técnica puede consistir en medir el nivel de proteína ACS obtenido cuando la secuencia que codifica esta proteína está bajo el control de diferentes promotores, utilizando anticuerpos dirigidos al encuentro de esta proteína, y los procedimientos descritos en la parte "polipéptidos según la invención".

Como ejemplo, un polinucleótido regulador (Pa) no funcional comprende una secuencia de nucleótidos que va desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 3650 de la secuencia SEQ ID N° 2.

También como ejemplo, un polinucleótido regulador (Pa) no funcional comprende ciertas secuencias de nucleótidos que comprenden una o varias sustituciones, deleciones o adiciones de bases, con respecto a la secuencia de nucleótidos que va desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 3650 de la secuencia SEQ ID N° 1.

Por tanto, en la combinación de dos elementos genéticos para el control del desarrollo del tipo floral objeto de la invención, un polinucleótido regulador (Pa) no funcional puede comprender una secuencia de nucleótidos que va desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 3650 de la secuencia SEQ ID N° 2 alterado por uno de los métodos del experto en la técnica.

La invención tiene también por objeto una combinación de dos elementos genéticos para el control del desarrollo del tipo floral como se define en la presente invención, y en la que el alelo (a) es un ácido nucleico que comprende la secuencia SEQ ID N° 2. Este ácido nucleico de secuencia SEQ ID N° 2 comprende un polinucleótido regulador (Pa) y un ácido nucleico que codifica la proteína ACS de secuencia SEQ ID N° 3.

Un polinucleótido (Pa) no funcional puede ser también cualquier polinucleótido derivado del polinucleótido (PA) como se define con anterioridad, cuya secuencia de nucleótidos comprende una inserción, una sustitución o una deleción de uno o varios nucleótidos, con respecto a la secuencia de nucleótidos del polinucleótido regulador.

Por tanto, en ciertos modos de realización de la combinación según la invención, un polinucleótido (Pa) consiste en un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que porta al menos una alteración escogida entre una mutación, una inserción o una deleción, con respecto al ácido nucleico que va desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 5907 de la secuencia SEQ ID N° 1, conduciendo dicho ácido nucleico alterado a una expresión reducida de la proteína ACS, cuando controla la expresión de dicha proteína, con respecto a la expresión de la proteína ACS controlada por el ácido nucleico que va desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 5907 de la secuencia SEQ ID N° 1.

La invención tiene también por objeto una combinación de dos elementos genéticos para el control del desarrollo del tipo floral como se define con anterioridad, en la que el polinucleótido regulador (Pa) es sensible a la acción de una señal inductora y, preferentemente, en el que el polinucleótido regulador (Pa) es un polinucleótido represor inducible de la transcripción o de la traducción.

Según este primer modo de realización particular, la expresión de la secuencia que codifica una proteína ACS es constitutiva en el hospedante celular escogido, en ausencia de la señal inductora represora a la que es directa o indirectamente sensible el polinucleótido regulador represor.

El contacto del hospedante celular con la señal inductora represora tiene como efecto, gracias a una acción directa o indirecta sobre el polinucleótido regulador represor, inhibir y/o bloquear la expresión del polinucleótido que codifica la proteína ACS.

Para realizar las construcciones de ADN según la invención que comprenden un polinucleótido regulador represor, el experto en la técnica podrá recurrir a sus conocimientos generales técnicos en el campo de la expresión de genes en vegetales.

Un procedimiento de obtención de una planta transformada, utilizando este tipo de polinucleótido regulador, se describe en la parte titulada "procedimientos de obtención de una planta transformada según la invención".

- Ácido nucleico (Na) no funcional para la expresión de una proteína ACS activa

Un ácido nucleico (Na) abarca los ácidos nucleicos que comprenden al menos una parte de una secuencia que codifica una proteína ACS activa pero que no permite, cuando se colocan bajo el control de un polinucleótido regulador funcional en las células de plantas dicotiledóneas, la producción en dichas plantas de una proteína CmWIP1 activa.

Un ácido nucleico (Na) abarca esencialmente los ácidos nucleicos (NA) en los que están presentes una o varias mutaciones en al menos un intrón o un exón, siendo escogida cada mutación entre (i) la sustitución de un nucleótido o más de un nucleótido (ii) la delección de un nucleótido o de al menos dos nucleótidos consecutivos y (ii) la delección de un nucleótido o de al menos dos nucleótidos consecutivos, con respecto al ácido nucleico (NA) de referencia. Un ácido nucleico (Na) abarca particularmente los ácidos nucleicos que codifican una proteína ACS no activa.

Mediante ácido nucleico que codifica una proteína ACS no activa se entiende, en el contexto de la presente invención, un ácido nucleico que codifica una proteína que difiere de la proteína ACS de secuencia SEQ ID N° 3 mediante la sustitución, la delección o la inserción de uno o varios aminoácidos y que no posee la actividad biológica de la proteína ACS de secuencia SEQ ID N° 3. Un ejemplo ilustrativo de este ácido nucleico se presenta en la figura 8.

En particular, esta proteína ACS no activa no permite transformar la S-adenosil-metionina en ACC (1-aminociclopropano-1-carboxilato).

Ácidos nucleicos según la invención

Como se indicó con anterioridad, se caracterizaron dos variantes alélicas (G) y (g) del segundo elemento genético de control (G/g) incluidos en una combinación de dos elementos genéticos para el control del desarrollo floral de la invención.

Los inventores han identificado el ácido nucleico de secuencia SEQ ID N° 10 como un ácido nucleico correspondiente a la variante alélica dominante (G) y su forma metilada *in planta*, como correspondiente a la variante alélica recesiva (g) del segundo elemento genético de control en forma de un gen (G/g).

En la combinación de dos elementos genéticos para el control del desarrollo floral de la invención, al menos el segundo de los dos elementos genéticos de control fue construido artificialmente en una planta.

Como se expuso con anterioridad, esta introducción provoca un cambio de sexo de la flor de la planta, que es uno de los objetivos buscado según la invención.

En consecuencia, el ácido nucleico de secuencia SEQ ID N° 10 forma parte de los objetivos de la invención.

La presente invención por tanto tiene por objeto un ácido nucleico que comprende un polinucleótido que posee al menos un 95% de identidad de nucleótidos con la secuencia de nucleótidos SEQ ID N° 10, o con un fragmento de la secuencia SEQ ID N° 10, con la condición de que este ácido nucleico posea las características funcionales del alelo (G) como se define con anterioridad.

También forma parte de la invención un ácido nucleico de secuencia complementaria al ácido nucleico como se define con anterioridad.

Otro objeto de la invención es un ácido nucleico que consiste en un polinucleótido que posee al menos un 95% de identidad de nucleótidos con la secuencia SEQ ID N° 10, o con un fragmento de la secuencia SEQ ID N° 10, o un ácido nucleico de secuencia complementaria, con la condición de que este ácido nucleico posea las características funcionales del alelo (G) como se define con anterioridad.

La invención se refiere también a un ácido nucleico que comprende al menos 12, preferentemente al menos 15 y de forma muy preferida al menos 20 nucleótidos consecutivos del ácido nucleico de secuencia SEQ ID N° 10, debiendo entenderse que este ácido nucleico abarca en su definición los "fragmentos" de un ácido nucleico según la invención como se define en la presente descripción.

La invención se refiere también al ácido nucleico que comprende o que consiste en la secuencia SEQ ID N° 10.

La invención se refiere también a un ácido nucleico que comprende al menos 12, preferentemente al menos 15 y de forma muy preferida al menos 20 nucleótidos consecutivos del ácido nucleico de secuencia SEQ ID N° 10, debiendo entenderse que este ácido nucleico abarca en su definición los "fragmentos" de un ácido nucleico según la invención como se define en la presente descripción.

El alelo (G) definido por la secuencia SEQ ID N° 10 comprende, en el extremo 5' hacia el extremo 3', respectivamente:

a) una secuencia no codificadora que porta elementos reguladores de la transcripción y/o de la traducción de este gen, localizada en sentido ascendente del primer exón, del nucleótido en posición 1 hasta el nucleótido en posición 2999 de la secuencia SEQ ID N° 10;

b) una región denominada “codificante” que comprende los dos exones y el intrón del gen (G/g), estando localizada esta región codificadora que va desde el nucleótido en posición 3000 hasta el nucleótido en posición 5901 de la secuencia SEQ ID N° 10; y

- 5 c) una región no codificadora localizada por debajo de la región codificadora, que va desde el nucleótido en posición 5902 hasta el nucleótido en posición 7621 de la secuencia SEQ ID N° 10.

Las características estructurales de los dos exones y del intrón del gen G/g se detallan en la tabla 2 siguiente. Las características estructurales de los dos exones y del intrón de los alelos (G) y (g) del gen (G/g) son muy parecidas, de forma que los exones de los alelos (G) y (g) pueden, en ciertos modos de realización, codificar una misma proteína de la secuencia SEQ ID N° 12. Como se ha indicado con anterioridad, la diferencia principal entre las secuencias de nucleótidos correspondientes a los alelos (G) y (g) se puede encontrar:

(i) ya sea en las secuencias reguladoras en dirección ascendentes correspondientes a estos dos alelos, que están no metilados *in planta* para el alelo (G) y que están metiladas *in planta* para el alelo (g),

(ii) ya sea en la secuencia de los exones, ya que una sola sustitución de nucleótido que provoque la sustitución de un aminoácido en la secuencia de la proteína CmWIP1 es suficiente para la obtención del alelo (g)

Tabla 2

Secuencia de los exones del gen G/g		
Exón nº	Posición del nucleótido en 5' sobre SEQ ID N° 10 (alelo G)	Posición del nucleótido en 3' sobre SEQ ID N° 10 (alelo G)
1	3000	3617
2	5458	5901

La invención se refiere también a un ácido nucleico que comprende al menos 12 nucleótidos consecutivos de un polinucleótido exónico del gen G/g, como los polinucleótidos 1 y 2 descritos en la tabla 2 siguiente, que están incluidos en el ácido nucleico de secuencia SEQ ID N° 10.

Este ácido nucleico codifica al menos una parte de la proteína CmWIP1 y puede ser insertado en un vector recombinante destinado a la expresión del producto de traducción correspondiente en una célula hospedante o en una planta transformada con este vector recombinante, con el fin de obtener una planta de genotipo (G).

Este ácido nucleico puede ser utilizado también para la síntesis de sondas y de cebadores de nucleótidos destinados a la detección o a la amplificación de secuencias de nucleótidos comprendidos en el gen (G/g) en una muestra.

En su caso, las secuencias anteriormente descritas pueden portar una o varias mutaciones, preferentemente una o varias mutaciones de naturaleza que induzca a la síntesis de una proteína CmWIP1 no activa y que modifique el tipo sexual de una planta que porta este gen (G/g) mutado. Estas secuencias responden a la definición de ácidos nucleicos que codifican una proteína CmWIP1 no activa, definidos de forma general con anterioridad.

Tabla 3

Secuencia del intrón del gen (G/g)		
Intrón nº	Posición del nucleótido en 5' sobre SEQ ID N° 10 (alelo G)	Posición del nucleótido en 3' sobre SEQ ID N° 10 (alelo G)
1	3618	5457

La invención se refiere también a un ácido nucleico que comprende al menos 12 nucleótidos consecutivos de un polinucleótido intrónico del gen (G/g), descrito en la Tabla 3 anterior, que están incluidos en el ácido nucleico de secuencia SEQ ID N° 10.

Este ácido nucleico puede ser utilizado como sonda o cebador oligonucleótido para detectar la presencia de al menos una copia del gen (G/g) en una muestra o incluso para amplificar una secuencia diana determinada en el gen (A/a).

Este ácido nucleico puede ser utilizado también para amplificar una secuencia diana determinada en el gen (G/g) o para inhibirla mediante una aproximación de sentido o co-supresión, o mediante la utilización de ARN de cadena doble (Wassenegger et al. 1996; Kooter et al. 1999) para interferencia. Este ácido nucleico puede ser utilizado también para buscar variantes alélicas funcionales del gen (G/g), que podrían ser utilizadas en un método de selección de plantas que poseen un tipo sexual determinado.

Otros ácidos nucleicos según la invención, que codifican la proteína CmWIP1

La invención tiene también por objeto un ácido nucleico que comprende un polinucleótido que posee al menos un 95% de identidad de nucleótidos con la secuencia de nucleótidos partiendo del nucleótido en posición 3000 y terminando en el nucleótido en posición 5901 de la secuencia SEQ ID N° 10, así como un ácido nucleico de secuencia complementaria.

La invención se refiere también a un ácido nucleico que posee al menos un 95% de identidad en nucleótidos con la secuencia de nucleótidos partiendo del nucleótido en posición 3000 y terminando en el nucleótido en posición 5901 de la secuencia SEQ ID N° 10, así como un ácido nucleico de secuencia complementaria.

La invención tiene todavía por objeto un ácido nucleico que comprende la secuencia de nucleótidos partiendo del nucleótido en posición 3000 y terminando en el nucleótido en posición 5901 de la secuencia SEQ ID N° 10 o un ácido nucleico de secuencia complementaria.

La invención trata también de un ácido nucleico que consiste en la secuencia de nucleótidos partiendo del nucleótido en posición 3000 y terminando en el nucleótido en posición 5901 de la secuencia SEQ ID N° 10 o un ácido nucleico de secuencia complementaria.

Otro objeto de la invención consiste en un ácido nucleico que comprende, al menos:

(i) una secuencia que tiene al menos un 95 de identidad con el polinucleótido que va desde el nucleótido 3000 hasta el nucleótido 3617 de la secuencia SEQ ID N° 10,

(ii) una secuencia que tiene al menos un 95% de identidad con el polinucleótido que va desde el nucleótido 5458 hasta el nucleótido 5901 de la secuencia SEQ ID N° 10.

La invención tiene todavía por objeto un ácido nucleico que comprende, desde el extremo 5' hacia el extremo 3':

(i) una secuencia que va desde el nucleótido 3000 hasta el nucleótido 3617 de la SEQ ID N° 10, y

(ii) una secuencia que va desde el nucleótido 5458 hasta el nucleótido 5901 de la SEQ ID N° 10.

Un ácido nucleico que codifica la proteína CmWIP1 puede comprender además secuencias líder y terminadoras, habituales para un experto en la técnica.

Productos de transcripción y de traducción del gen (G/g) y polipéptidos según la invención

La expresión del ácido nucleico genómico que codifica la proteína CmWIP1 conduce a la síntesis de un ARN mensajero cuyo ADNc es el ácido nucleico de secuencia SEQ ID N° 11, que es también uno de los objetos de la presente invención.

Por tanto, la invención tiene por objeto el polipéptido que comprende la secuencia de ácidos nucleicos SEQ ID N° 12, también denominado "proteína CmWIP1" en la presente invención, así como un polipéptido que posee al menos un 95% de identidad de aminoácidos con la secuencia SEQ ID N° 12, un fragmento o variante de la mismo.

Una ilustración según la invención de una proteína CmWIP1 que posee al menos un 95% de identidad de aminoácidos con la secuencia SEQ ID N° 12 consiste en la proteína de secuencia SEQ ID N° 16, que difiere de la proteína de secuencia SEQ ID N° 12 por la delección de un residuo de cerina.

Un fragmento de una proteína CmWIP1 según la invención comprende al menos 10, 50, 100, 200, 300, 320, 330, 340, 345 o 353 aminoácidos consecutivos de un polipéptido de secuencia SEQ ID N° 12.

La invención se refiere también a un polipéptido que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que tiene al menos un 95% de identidad de aminoácidos con la secuencia de una proteína CmWIP1 de secuencia SEQ ID N° 12.

Ventajosamente, forma también parte de la invención un polipéptido que tiene al menos un 96% 97%, 98%, 99%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8% o 99,9% de identidad de aminoácidos con la secuencia de un polipéptido de secuencia SEQ ID N° 12, o un fragmento polipéptido de este último.

De forma general, los polipéptidos según la presente invención se presentan en forma aislada o purificada.

Un polipéptido según la invención puede ser obtenido mediante recombinación genética según técnicas bien conocidas por un experto en la técnica, por ejemplo, las técnicas descritas por AUSUBEL et al. (1989).

Un polipéptido según la invención se puede preparar también mediante técnicas clásicas de síntesis química, indiferentemente en solución homogénea o en fase sólida.

Con carácter ilustrativo, un polipéptido según la invención se podrá preparar mediante la técnica en solución homogénea descrita por HOUBEN WEIL (1974) o incluso mediante la técnica de síntesis en fase sólida descrita por MERRIFIELD (1965a; 1965b).

Preferentemente, los polipéptidos variantes de un polipéptido según la invención conservan su capacidad de ser reconocidos por anticuerpos dirigidos contra los polipéptidos de secuencias SEQ ID N° 12.

Un polipéptido codificado por el gen (G/g) según la invención, como un polipéptido de secuencia de aminoácidos SEQ ID N° 12, o incluso una variante o un fragmento péptido de este último es útil en particular para la preparación de anticuerpos destinados a la detección de la presencia y/o la expresión de un polipéptido de secuencias SEQ ID N° 12 o de un fragmento péptido de este último en una muestra.

Además de la detección de la presencia de un polipéptido codificado por el gen (G/g) o incluso de un fragmento péptido de este polipéptido en una muestra, los anticuerpos dirigidos contra estos polipéptidos son utilizados para cuantificar la síntesis de un polipéptido de secuencias SEQ ID N° 12, por ejemplo, en células de una planta y determinar así el sexo de la planta, sin que sea por tanto necesario cultivarla.

Mediante "anticuerpo" en el contexto de la presente invención, se entenderá en particular anticuerpos policlonales o monoclonales o fragmentos (por ejemplo, los fragmentos F(ab)², F(ab)) o incluso cualquier polipéptido que comprenda un dominio del anticuerpo inicial que reconoce el polipéptido o el fragmento de polipéptido diana según la invención.

Los anticuerpos monoclonales pueden ser preparados a partir de hibridomas según la técnica descrita por KOHLER y MILSTEIN (1975).

La presente invención se refiere también a anticuerpos dirigidos contra un polipéptido como se describe con anterioridad o un fragmento o variante de este último, como el producto en la técnica del trioma o incluso la técnica de hibridoma descrita por KOZBOR et al. (1983).

La invención trata también de fragmentos de anticuerpos de cadena única Fv (ScFv) como se describe en la patente US n° 4.946.778 o incluso por MARTINEAU et al. (1998).

Los anticuerpos según la invención comprenden también fragmentos de anticuerpos obtenidos por medio de bancos de fagos como se describe por RIDDER et al. (1995) o incluso anticuerpos humanizados como se describe por REINMANN et al. (1997) y LEGER et al. (1997). Las preparaciones de anticuerpos según la invención son útiles en ensayos de detección inmunológicos destinados a la identificación de la presencia y/o de la cantidad de un polipéptido de secuencias SEQ ID N° 3, o de un fragmento péptido del mismo, presente en una muestra.

Un anticuerpo según la invención podrá comprender isotopías un marcador detectable isotópico o no isotópico, por ejemplo, fluorescente, o incluso estar acoplado a una molécula como biotina, según técnicas bien conocidas por un experto en la técnica.

Por tanto, la invención tiene también por objeto un procedimiento para detectar la presencia de un polipéptido de acuerdo con la invención en una muestra, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:

- a) poner en contacto la muestra que va a ser ensayada con un anticuerpo como se describe con anterioridad;
- b) detectar el complejo antígeno/anticuerpo formado.

La invención se refiere también a un estuche o equipo de ensayo de diagnóstico para la detección de la presencia de un polipéptido según la invención en una muestra, comprendiendo dicho estuche:

- a) un anticuerpo como se define con anterioridad;
- b) en su caso, uno varios reactivos necesarios para la detección del complejo antígeno/anticuerpo formado.

Otro objeto de la invención consiste en la utilización de un ácido nucleico o una variante alélica de un ácido nucleico como se define con anterioridad en programas de selección de plantas para la obtención de plantas cuyo tipo floral ha sido modificado.

Ácidos nucleicos que comprenden un polinucleótido regulador (PG) funcional

Un polinucleótido regulador o promotor (PG) funcional según la invención consiste en un ácido nucleico que permite

la expresión de la proteína CmWIP1 de secuencia SEQ ID N° 12 en plantas dicotiledóneas.

Este polinucleótido regulador (PG) funcional permite así, cuando es introducido artificialmente en una planta modificar el sexo de las flores de esta planta y, en particular, permite obtener plantas machos y hembras o machos y hermafroditas, capaces de una autopolinización.

Por tanto, la invención tiene también por objeto un ácido nucleico que comprende un polinucleótido que posee al menos un 95% de identidad de nucleótidos con la secuencia de nucleótidos partiendo del nucleótido en posición 1 y terminando en el nucleótido en posición 2999 de la secuencia SEQ ID N° 10, así como un ácido nucleico de secuencia complementaria.

La invención se refiere también a un ácido nucleico que posee al menos un 95% de identidad de nucleótidos con la secuencia de nucleótidos partiendo del nucleótido en posición 1 y terminando en el nucleótido en posición 2999 de la secuencia SEQ ID N° 10, así como un ácido nucleico de secuencia complementaria.

La invención tiene todavía por objeto un ácido nucleico que comprende la secuencia de nucleótidos partiendo del nucleótido en posición 1 y terminando en el nucleótido en posición 2999 de la secuencia SEQ ID N° 10 o un ácido nucleico de secuencia complementaria.

La invención trata también de un ácido nucleico que consiste en la secuencia de nucleótidos partiendo del nucleótido en posición 1 y terminando en el nucleótido en posición 2999 de la secuencia SEQ ID N° 10 o de un ácido nucleico de secuencia complementaria.

El polinucleótido regulador que tiene el nucleótido en posición 1 hasta el nucleótido en posición 2999 de la secuencia SEQ ID N° 10 es también citado como el ácido nucleico de secuencia SEQ ID N° 13 en la presente descripción.

La invención trata también de un ácido nucleico que comprende al menos 12 nucleótidos consecutivos de un polinucleótido regulador, como se define con anterioridad.

Este ácido nucleico puede ser utilizado como sonda o cebador oligonucleótido para detectar la presencia de al menos una copia del alelo (G) o el gen (G/g) en una muestra, para amplificar una secuencia diana determinada en el gen (G/g). Este ácido nucleico puede ser utilizado también para buscar variantes alélicas funcionales del gen (G/g) o podrán ser utilizados en un método de selección de plantas que poseen un tipo sexual determinado.

Los procedimientos de detección que utilizan ácidos nucleicos como se describen con anterioridad están descritos en la parte titulada "procedimientos de selección según la invención".

Este ácido nucleico puede ser utilizado para inhibir una secuencia diana determinada en el gen (G/g) mediante una aproximación antisentido o de co-supresión o mediante la utilización de ARN de cadena doble (Wassenegger et al. 1996; Kooter et al. 1999) para interferencia.

Ácidos nucleicos que comprenden un polipéptido regulador Pg no funcional

Un polipéptido regulador (Pa) o promotor no funcional según la invención es un ácido nucleico que:

(i) no permite la expresión de la proteína CmWIP1 de secuencia SEQ ID N° 12 en una célula hospedante, o

(ii) permite la expresión de esta proteína a un nivel muy bajo en comparación con el nivel observado con el polinucleótido regulador (PG), o

(iii) permite la expresión de la proteína CmWIP1 en el transcurso de la vida de la planta, durante un período inferior, en comparación con el observado con el polinucleótido regulador (Pg).

Este polinucleótido regulador (Pg) no funcional permite, por tanto, cuando es introducido artificialmente en una planta, por ejemplo, en sustitución de un polinucleótido (G), modificar el sexo de las flores de esta planta y, en particular, permite obtener plantas hermafroditas, capaces de autopolinización o bien de plantas hembras.

Este ácido nucleico puede ser utilizado como sonda o cebador oligonucleótido para detectar la presencia de al menos un par de alelo (a) del gen (G/g) en una muestra o incluso para amplificar una secuencia diana determinada en el gen (G/g).

La invención se refiere finalmente a ácidos nucleicos que comprenden la asociación de uno o varios ácidos nucleicos como se definen con anterioridad, por ejemplo, un ácido nucleico que codifica una proteína CmWIP1 funcional bajo el control de un promotor de tipo (PG) o (Pg).

Definiciones generales

Según la invención, puede ser utilizada cualquier técnica habitual de biología molecular, de microbiología y de ADN recombinante conocida por un experto en la técnica. Estas técnicas se describen, por ejemplo, por SAMBROOK et al. (1989), GLOVER (1985), GAIT (1984), HAMES et HIGGINS (1984), BERBAL (1984) y AUSUBEL et al. (1994).

5 De forma preferida, cualquier ácido nucleico y cualquier polipéptido según la invención se presenta en forma aislada o purificada.

10 El término "aislado" en el contexto de la presente invención indica un material biológico que ha sido sustraído de su entorno original (el entorno en el que está localizado de forma natural). Por ejemplo, un polinucleótido presente en estado natural en una planta no está aislado. El mismo polinucleótido separado de los ácidos nucleicos adyacentes en cuyo seno está insertado de forma natural en el genoma de la planta si está aislado. Este polinucleótido puede ser incluido en un vector y/o este nucleótido puede ser incluido en una composición y no obstante permanecer en estado aislado debido a que el vector o la composición no constituye su entorno natural.

15 El término "purificado" no precisa que el material esté presente en una forma de pureza absoluta, que excluya la presencia de otros compuestos. Se trata mayormente de una definición relativa.

20 Un polinucleótido o un polipéptido está en estado purificado después de una purificación del material de partida o del material natural de al menos un orden de magnitud, preferentemente de dos o tres, y preferentemente, cuatro o cinco ordenes de magnitud.

25 Para los fines de la presente descripción, la expresión "secuencia de nucleótidos" puede ser empleada para indicar de forma indiferente un nucleótido o un ácido nucleico. La expresión "secuencia de nucleótidos" abarca el material genético en sí mismo y, por tanto, no está restringido a la información relativa a su secuencia.

30 Los términos "ácido nucleico", "polinucleótido", "oligonucleótido" o incluso "secuencia de nucleótidos" abarcan las secuencias de ARN, de ADN, de ADNc o incluso secuencias híbridas de ARN/ADN de más de un nucleótido, indiferentemente en forma de cadena única o en forma de dúplex.

35 El término "nucleótido" indica al mismo tiempo nucleótidos naturales (A, T, G, C), así como nucleótidos modificados que comprenden al menos una modificación como (i) un análogo de una purina, (ii) un análogo de una pirimidina o (iii) un análogo de azúcar, siendo descritos estos nucleótidos modificados, por ejemplo, en la solicitud PCT nº WO95/04064.

Para los fines de la presente invención, un primer nucleótido se considera que es "complementario" de un segundo polinucleótido cuando cada base del primer nucleótido está emparejada a la base complementaria del segundo polinucleótido cuya orientación está invertida. Las bases complementarias son A y T (o A y U) y C y G.

40 Según la invención, un primer ácido nucleico que tiene al menos un 95% de identidad con un segundo ácido nucleico de referencia, poseerá al menos un 95%, preferentemente al menos 96%, 97%, 98%, 98,5%, 99%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8% o 99,9% de identidad de nucleótidos con este segundo polinucleótido de referencia, siendo determinado el porcentaje de identidad entre dos secuencias como se describe con anterioridad.

45 El "porcentaje de identidad" entre dos secuencias de ácidos nucleicos, en el contexto de la presente invención, se determina comparando las dos secuencias alineadas de forma óptima, a través de una ventana de comparación.

50 La parte de la secuencia de nucleótidos en la ventana de comparación puede comprender por tanto adiciones o deleciones (por ejemplo, "huecos") con respecto a la secuencia de referencia (que no comprende estas adiciones o estas deleciones) de forma que se obtenga una alineación óptima entre las dos secuencias.

55 El porcentaje de identidad se calcula determinando el número de posiciones en las que se observa una base nucleica idéntica para las dos secuencias comparadas, dividiendo seguidamente el número de posiciones a las que hay identidad entre las dos bases nucleicas por el número total de posiciones en la ventana de comparación, multiplicando seguidamente el resultado por 100 con el fin de obtener el porcentaje de identidad de nucleótidos de las dos secuencias entre ellas.

60 La alineación óptima de las secuencias para la comparación se puede realizar de manera informática por medio de algoritmos conocidos.

65 De forma especialmente preferida, el porcentaje de identidad de secuencias se determina por medio de la aplicación CLUSTAL W (versión 1.82) siendo fijados los parámetros como sigue: (1) CPU MODE = ClustalW mp; (2) ALIGNMENT = «full»; (3) OUTPUT FORMAT = «aln w/numbers»; (4) OUTPUT ORDER = «aligned»; (5) COLOR ALIGNMENT = «no»; (6) KTUP (word size) = «default»; (7) WINDOW LENGTH = «default»; (8) SCORE TYPE = «percent»; (9) TOPDIAG = «default»; (10) PAIRGAP = «default»; (11) PHYLOGENETIC TREE/TREE TYPE =

«none»; (12) MATRIX = «default»; (13) GAP OPEN = «default»; (14) END GAPS = «default»; (15) GAP EXTENSION = «default»; (16) GAP DISTANCES = «default»; (17) TREE TYPE = «cladogram» et (18) TREE GRAP DISTANCES = «hide».

- 5 Un ácido nucleico que posee al menos un 95% de identidad de nucleótidos con un ácido nucleico según la invención abarca las “variantes” de un ácido nucleico según la invención.

10 Por “variante” de un ácido nucleico según la invención se entiende un ácido nucleico que difiere del ácido nucleico de referencia en una o varias sustituciones, adiciones o deleciones de un nucleótido, con respecto al ácido nucleico de referencia. Una variante de un ácido nucleico según la invención puede ser de origen natural, como una variante alélica que existe de forma natural. Esta variante de ácido nucleico puede ser también un ácido nucleico no natural obtenido, por ejemplo, mediante técnicas de mutagénesis.

15 En general, las diferencias entre el ácido nucleico de referencia y la “variante” del ácido nucleico son reducidas, de forma que el ácido nucleico de referencia y la variante de ácido nucleico tienen secuencias de nucleótidos muy similares y, en numerosas regiones, idénticas. Las modificaciones de nucleótidos presentes en una variante de ácido nucleico pueden ser silenciosas, lo que significa que no afectan a la secuencia de aminoácidos que puede estar codificada por esta variante de ácido nucleico.

20 Las modificaciones de nucleótidos en la variante de ácido nucleico pueden resultar también de sustituciones, adiciones o deleciones de uno o varios aminoácidos en la secuencia de polipéptidos que puede ser codificada por esta variante de ácido nucleico.

25 De forma especialmente preferida, una variante de ácido nucleico según la invención comprende una fase de lectura abierta, código para un polipéptido que conserva la misma función o la misma actividad biológica que el polipéptido código por el ácido nucleico de referencia.

30 De forma especialmente preferida, una variante de ácido nucleico según la invención que comprende una fase de lectura abierta, código para un polipéptido que conserva la capacidad de ser reconocido por anticuerpos dirigidos contra el polipéptido codificado por el ácido nucleico de referencia.

35 Forman parte de las “variantes” de un ácido nucleico que codifica la proteína ACS los ácidos nucleicos de los genes ortólogos a la proteína CmWIP1 incluidos en el genoma de plantas y que poseen una identidad de nucleótidos de al menos 95% con un ácido nucleico que codifica la proteína CmWIP1. Mediante “Fragmento” de un ácido nucleico según la invención se entiende una secuencia de nucleótidos de longitud reducida con respecto al ácido nucleico de referencia, poseyendo el fragmento de ácido nucleico una secuencia de nucleótidos idéntica a la secuencia de nucleótidos del ácido nucleico de referencia sobre la parte común.

40 Estos fragmentos de un ácido nucleico según la invención poseen al menos 12, 15, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 300, 400, 500, 1000, 2000 o 3000 nucleótidos consecutivos del ácido nucleico de referencia, debiendo entenderse que la longitud máxima de nucleótidos de un fragmento de un ácido nucleico según la invención está limitada por la longitud máxima de nucleótidos del ácido nucleico de referencia.

45 Sondas y cebadores

Los ácidos nucleicos según la invención y, en particular, las secuencias de nucleótidos SEQ ID N° 10 y SEQ ID N° 11, sus fragmentos de al menos 12 nucleótidos, los polinucleótidos reguladores (PG) y (Pg), así como los ácidos nucleicos de secuencia complementaria, son útiles para la detección de la presencia de al menos una copia de una secuencia de nucleótidos del gen (G/g) o incluso de un fragmento o de una variante alélica de este último en una muestra.

50 En particular, las sondas y cebadores anteriores derivados de la secuencia SEQ ID N° 10 y, en particular, derivados del polinucleótido regulador (PG) pueden ser utilizadas para detectar la presencia del alelo (G) en una planta dicotiledónea.

55 Forman parte de la invención también las sondas y cebadores nucleótidos hibridantes, en condiciones de hibridación de elevada astringencia, con un ácido nucleico escogido entre las secuencias SEQ ID N° 10 y SEQ ID N° 11 o con un polinucleótido regulador (PG) o (Pg).

60 Por tanto, la invención tiene también por objeto un ácido nucleico utilizado como sonda o cebador, que se hibrida específicamente con un ácido nucleico como se define con anterioridad.

65 Las condiciones de hibridación posteriores se utilizan para la hibridación de un ácido nucleico, sonda o cebador, de 20 bases de longitud.

El nivel y la especificidad de hibridación dependen de diferentes parámetros, como:

- a) la pureza de la preparación del ácido nucleico sobre el que se debe hibridar la sonda o el cebador;
- 5 b) la composición de bases de la sonda o del cebador, los pares de bases G-C que poseen una mayor estabilidad térmica que los pares de bases A-T o A-U;
- c) la longitud de la secuencia de bases homologas entre la sonda o el cebador y el ácido nucleico;
- 10 d) la fuerza iónica: el grado de hibridación aumenta con el crecimiento de la fuerza iónica y la duración del tiempo de incubación;
- e) la temperatura de incubación;
- 15 f) la concentración de ácido nucleico sobre la cual se debe hibridar la sonda o el cebador;
- g) la presencia de agentes desnaturalizantes como agentes que favorecen la rotura de los enlaces de hidrógeno como formamida o urea que aumentan la astringencia de la hibridación;
- 20 h) el tiempo de incubación, aumentando el grado de hibridación con la duración de la incubación;
- i) la presencia de agentes de exclusión de volumen, como dextrano sulfato de dextrano, que aumentan el grado de hibridación debido a que aumentan las concentraciones efectivas de la sonda o del cebador y del ácido nucleico que se debe hibridar, en el contexto en la preparación.
- 25 Los parámetros que definen las condiciones de astringencia dependen de la temperatura a la que se separan un 50% de enlaces pareados (T_m).

Para secuencias que comprenden más de 360 bases, la T_m se define mediante la relación:

$$T_m = 81,5 + 0,41 (\% G+C) + 16,6 \log (\text{concentración en cationes}) - 0,63 (\% \text{ formamida}) - (600/\text{número de bases})$$

(SAMBROOK et al., (1989), páginas 9.54-9.62).

Para secuencias de longitud inferior a 30 bases, la T_m se define mediante la relación: $T_m = 4 (G+C) + 2 (A+T)$.

En las condiciones de astringencia apropiadas, en las cuales las secuencias específicas no se hibridan, la temperatura de hibridación es de aproximadamente 5 a 30° C, preferentemente de 5 a 10°C por debajo de la T_m .

Mediante "condiciones de hibridación de elevada astringencia" según la invención se entienden las condiciones de hibridación tales las que se colocan a una temperatura de hibridación de 5°C por debajo de la T_m .

Las condiciones de hibridación anteriormente descritas pueden ser adaptadas en función de la longitud y de la composición de bases del ácido nucleico cuya hibridación se busca o del tipo de marcado escogido, según las técnicas conocidas por un experto en la técnica.

Las condiciones convenientes de hibridación pueden ser adaptadas, por ejemplo, según las instrucciones contenidas en la publicación de HAMES y HIGGINS (1985) o incluso en la publicación de AUSUBEL et al. (1989).

Con carácter ilustrativo, las condiciones de hibridación utilizadas para el ácido nucleico de 200 bases de longitud son las siguientes:

Prehibridación:

Mismas condiciones que para la hibridación

Duración: 1 noche.

Hibridación:

5 x SSPE (NaCl 0.9 M, fosfato de sodio 50 mM, pH 7,7, EDTA 5 mM)

5 x Denhardt's (0,2% PVP, 0,2% Ficoll, 0,2% SAB)

10 µg/ml de ADN de esperma de salmón

0,1% de SDS

Duración: 1 noche.

Lavados:

5 2 x SSC, 0,1% de SDS, 10 min, 65° C

1 x SSC, 0,1% de SDS, 10 min, 65°C

0,5 x SSC, 0,1% de SDS, 10 min, 65° C

10 0,1 x SSC, 0,1% de SDS, 10 min, 65° C.

Las sondas o los cebadores de nucleótidos según la invención comprenden al menos 12 nucleótidos consecutivos de un ácido nucleico según la invención, en particular un ácido nucleico de secuencias SEQ ID N° 10 o SEQ ID N° 11 o de su secuencia complementaria, de un ácido nucleico que tiene un 95% de identidad de nucleótidos con una secuencia escogida entre las secuencias SEQ ID N° 10 o SEQ ID N° 11 o de su secuencia complementaria o incluso de un ácido nucleico hibridante en condiciones de hibridación de elevada astringencia con una secuencia escogida entre las secuencias SEQ ID N° 10 o SEQ ID N° 11 o de su secuencia complementaria.

20 Preferentemente, las sondas o cebadores de nucleótidos según la invención tendrán una longitud de al menos 12, 15, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 100, 150, 200, 300, 400, 500, 1000, 2000 o 3000 nucleótidos consecutivos de un ácido nucleico según la invención.

25 Alternativamente, una sonda o un cebador de nucleótidos según la invención consistirá y/o comprenderá fragmentos con una longitud de 12, 15, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 100, 150, 200, 300, 400, 500, 1000, 2000 o 3000 nucleótidos consecutivos de un ácido nucleico según la invención.

30 Un cebador o una sonda de nucleótidos según la invención se puede preparar mediante cualquier método adaptado bien conocido por un experto en la técnica, comprendida la clonación y acción de enzimas de restricción o incluso mediante síntesis química directa según técnicas como el método de fosfodiéster de NARANG et al. (1979) o de BROWN et al. (1979), el método de dietilfosforamiditas de BEAUCAGE et al. (1980) o incluso la técnica sobre soporte sólido descrita en la patente Europea n° EP 0.707.592. Cada uno de los ácidos nucleicos según la invención, comprendidas las sondas y cebadores de oligonucleótidos anteriormente descritos, pueden ser marcados si se desea, incorporando una molécula detectable, es decir un marcador detectable por medios espectroscópicos, fotoquímicos, bioquímicos, inmunoquímicos o incluso químicos.

Por ejemplo, estos marcadores pueden consistir en isótopos radioactivos (³²P, ³H, ³⁵S) de moléculas fluorescentes (5-bromo desoxiuridina, fluoresceína, acetilaminofluoreno o incluso ligandos como biotina).

40 El marcado de las sondas se hace preferentemente mediante la incorporación de moléculas marcadas en polinucleótidos mediante extensión de cebadores o bien mediante adición a los extremos 5' o 3'.

45 Ejemplos de marcados no radioactivos de los fragmentos de ácidos nucleicos se describen en particular en la patente francesa n° FR 7810975 o incluso en los artículos de URDEA et al. (1988) o SANCHEZ PESCADOR et al. (1988).

50 De forma ventajosa, las sondas según la invención pueden tener características estructurales de naturaleza que permitan una amplificación de la señal, como las sondas descritas por URDEA et al; (1991) o incluso en la patente europea n° EP 0225807 (Chiron).

55 Las sondas de oligonucleótidos según la invención pueden ser utilizadas en particular en hibridaciones de tipo Southern en cualquier ácido nucleico que codifique la proteína SEQ ID N° y, en particular, ácidos nucleicos de secuencias SEQ ID N° 10 o SEQ ID N° 11 o incluso en hibridaciones de ARN cuando se busca la expresión del transcrito correspondiente en una muestra.

Las sondas según la invención pueden ser utilizadas también para la detección de productos de amplificación PCR o incluso para la detección de malapareamientos.

60 Las sondas o cebadores de nucleótidos según la invención pueden ser inmovilizados sobre un soporte sólido. Estos soportes sólidos son bien conocidos por un experto en la técnica y comprenden superficies de pocillos de placas de microtitulación, bolitas de poliestireno, bolitas magnéticas, bandas de nitrocelulosa o incluso micropartículas como partículas de látex.

65 En consecuencia, la invención tiene todavía por objeto un ácido nucleico utilizable como una sonda o cebador de nucleótidos, caracterizado porque comprende al menos 12 nucleótidos consecutivos de un ácido nucleico como se define con anterioridad, en particular, un ácido nucleico consecuencias de nucleótidos SEQ ID N° 10 y SEQ ID N°

11.

La invención se refiere también a un ácido nucleico utilizable como sonda o cebador de nucleótidos, caracterizado porque consiste en un polinucleótidos de al menos 12 nucleótidos consecutivos de un ácido nucleico según la invención, de manera especialmente referida un ácido nucleico de secuencias escogidas entre las secuencias de nucleótidos SEQ ID N° 10 y SEQ ID N° 11.

Como se describe con anterioridad, este ácido nucleico puede estar caracterizado además porque está marcado con una molécula detectable.

Un ácido nucleico utilizable como sonda o cebador de nucleótidos para detección o la amplificación de una secuencia genómica, de ARNm o de ADNc del gen (G/g) puede estar caracterizado además porque se escoge entre las secuencias siguientes:

a) secuencias de nucleótidos hibridantes, en condiciones de hibridación de elevada astringencia, con un ácido nucleico de secuencia SEQ ID N° 10 o SEQ ID N° 11;

b) secuencias que comprenden al menos 12 nucleótidos consecutivos de un ácido nucleico de secuencia SEQ ID N° 10 o SEQ ID N° 11.

Vectores, células y plantas según la invención

En la combinación de dos elementos genéticos para el control del desarrollo del tipo floral de una planta dicotiledónea objeto de la invención, para permitir que al menos uno de los elementos genéticos de control sea artificialmente introducido en la planta dicotiledónea, los ácidos nucleicos y los polinucleótidos reguladores anteriormente definidos deben ser introducidos en vectores y seguidamente en las células.

Por tanto, la invención tiene también por objeto vectores, células y plantas transformadas, que comprenden polinucleótidos reguladores (PG) y (Pg), ácidos nucleicos que codifican proteínas CmWIP1 activas o no activas, así como ácidos nucleicos correspondientes a alelos (G) y (g) como se definen con anterioridad y los cebadores de definidos por los mismos.

Vectores

Un ácido nucleico como se define con anterioridad, denominado en lo sucesivo ácido nucleico de interés, puede ser insertado en un vector apropiado.

Por "vector" en el contexto de la presente invención, se entiende una molécula de ADN o de ARN circular o lineal que está indiferentemente en forma de cadena única o de cadena doble.

Un vector recombinante según la invención es preferentemente un vector de expresión o, más específicamente, un vector de inserción, un vector de transformación o un vector de integración.

Se puede tratar en particular de un vector de origen bacteriano o viral.

En todos los casos, el ácido nucleico de interés está colocado bajo el control de una o varias secuencias que contienen señales de regulación de su expresión en la planta considerada, ya sea señales de regulación, es decir que las señales de regulación están todas contenidas en el ácido nucleico de interés, como es el caso en las construcciones de ácidos nucleicos descritos en la sección anterior, es decir, que uno o varios entre ellas, o incluso todas las señales de regulación están contenidas en el vector receptor en el que ha sido insertado el ácido nucleico de interés.

Un vector recombinante según la invención comprende ventajosamente secuencias de inicio y de detención de transcripción apropiadas.

Además, los vectores recombinantes según la invención pueden incluir uno o varios orígenes de replicación funcionales en las células hospedantes en las que se busca su expresión, así como, en su caso, secuencias de nucleótidos marcadores de selección.

Los vectores recombinantes según la invención pueden incluir también una o varias señales de regulación de la expresión como se definen con anterioridad en la descripción.

Los vectores bacterianos preferidos según la invención son, por ejemplo, vectores pBR322 (ATCC n°37 017) o incluso vectores como pAA223-3 (Pharmacia, Uppsala, Suecia) y pGEM1 (Promega Biotech, Madison, Estados Unidos).

Se pueden citar todavía otros vectores comercializados como los vectores pQE70, pQE60, pQE9 (Quiagen), psiX174, pBluescript SA, pNH8A, pMH16A, pMH18A, pMH46A, pWLNEO, pSV2CAT, pOG44, pXTI y pSG (Stratagene).

- 5 Se puede tratar también de vectores de tipo *Baculovirus* como el vector pVL1392/1393 (Pharmingen) utilizado para transfectar células de la línea Sf9 (ATCC nº CRL 1711) derivada de *Spodoptera frugiperda*.

De forma preferida, y para la aplicación principal de vectores de la invención consistente en obtener una expresión estable, y preferentemente inducible, de una secuencia que codifica una proteína CmWIP1 en una planta, se recurrirá a vectores especialmente adaptados para la expresión de secuencias de interés en células de plantas, como los vectores siguientes:

- vector pBIN19 (BEVAN et al.), comercializado por la empresa CLONTECH (Palo Alto, Californie, USA);
- 15 - vector pBI 101 (JEFFERSON, 1987), comercializado por la empresa CLONTECH;
- vector pBI121 (JEFFERSON, 1987), comercializado por la empresa CLONTECH;
- vector pEGFP; Yang et al. (1996), comercializado por la empresa CLONTECH;
- 20 - vector pCAMBIA 1302 (HAJDUKIEWICZ et al., 1994)
- vectores intermedios y superbinadiro derivados de los vectores pSB12 y pSB1 descritos por Japan Tobacco (documento EP 672 752 de Ishida et al., 1996).

25 Células

Los métodos más extendidos para introducir ácidos nucleicos en células bacterianas pueden ser utilizados en el contexto de esta invención. Puede ser la función de células receptoras con protoplastos bacterianos que contienen ADN, electroporación, bombardeo por proyectiles, infección mediante vectores virales, etc. Las células bacterianas a menudo son utilizadas para amplificar el número de plásmidos que contienen el constructo que comprende la secuencia de nucleótidos, objeto de la invención. Las bacterias se ponen en cultivo y los plásmidos seguidamente se aíslan según métodos bien conocidos por un experto en la técnica (se hace referencia a los manuales de protocolos ya citados), que incluyen estuches de ensayo de purificación de plásmidos comercializados, por ejemplo, por las entidades EasyPrep de Pharmacia Biotech o QIAexpress Expression System de Qiagen. Los plásmidos así aislados y purificados son seguidamente manipulados para producir otros plásmidos que serán utilizados para transfectar las células vegetales.

Para permitir la expresión de un ácido nucleico de interés según la invención colocado bajo el control de una secuencia reguladora apropiada, los ácidos nucleicos o los vectores recombinantes definidos en la presente invención deben ser introducidos en una célula hospedante. La introducción de los polinucleótidos según la invención en una célula hospedante se puede realizar *in vitro* según técnicas bien conocidas por un experto en la técnica.

La invención tiene por objeto además una célula hospedante transformada por un ácido nucleico según la invención o por un vector recombinante como se definió con anterioridad.

Esta célula hospedante transformada es preferentemente de origen bacteriano, fúngico o vegetal.

Por tanto, pueden ser utilizadas células bacterianas de diferentes cepas de *Escherichia coli* o incluso de *Agrobacterium tumefaciens*.

Ventajosamente, la célula hospedante transformada es una célula de planta o incluso un protoplasto de planta.

Entre las células que pueden ser transformadas según el procedimiento de la invención, se pueden citar como ejemplos células de planta dicotiledóneas, preferentemente pertenecientes a la familia de las cucurbitáceas, cuyos miembros se detallan con posterioridad en la parte titulada "plantas según la invención".

Preferentemente, se trata de una célula o de un protoplasto de una planta perteneciente a la especie *cucumis melo*.

La invención tiene también por objeto la utilización de un ácido nucleico de interés, para fabricar una planta transformada cuyo fenotipo sexual es modificado.

La invención se refiere también a la utilización de un vector recombinante como se define en la presente descripción para fabricar una planta transformada cuyo fenotipo sexual es modificado.

La invención se refiere también a la utilización de un hospedante celular transformado por un ácido nucleico de

interés, para fabricar una planta transformada cuyo fenotipo sexual es modificado.

La invención se refiere también a una planta transformada que comprende una pluralidad de células hospedantes como se definen con anterioridad.

5

Plantas transformadas según la invención.

La invención se refiere también a un organismo multicelular vegetal transformado, caracterizado porque comprende una célula hospedante transformada o una pluralidad de células hospedantes transformadas mediante al menos uno de los ácidos nucleicos como se definen con anterioridad o incluso mediante un vector recombinante que comprende este ácido nucleico.

10

La planta transformada puede contener una pluralidad de copias de un ácido nucleico que codifica la proteína CmWIP1, en situaciones en las que se busca una sobreexpresión de la proteína CmWIP1. Una sobreexpresión de la proteína CmWIP1 se busca particularmente cuando se desea obtener plantas que producen flores machos y hembras o bien plantas que producen flores machos y hermafroditas.

15

Una planta que sobreexpresa la proteína CmWIP1 produce flores machos y hembras en los modos de realización de la combinación de dos elementos genéticos de la invención en los que la proteína CmWIP1 es también sobreexpresada (alelo A presente en estado de homocigoto o heterocigoto y heterocigoto).

20

Una planta que sobreexpresa la proteína CmWIP1 produce flores machos y hermafroditas en los modos de realización de la combinación de dos elementos genéticos de la invención en la que hay ausencia de expresión de una proteína ACS activa.

25

Por tanto, la invención se refiere también a una planta transformada como se define con anterioridad cuyas flores son machos y hembras y una planta transformada como se define con anterioridad cuyas flores son machos y hermafroditas.

30

La planta transformada puede contener una pluralidad de copias de un ácido nucleico que codifica la proteína ACS, en situaciones en las que se busca una sobreexpresión de la proteína ACS. Una sobreexpresión de la proteína ACS es buscada particularmente cuando se desea obtener plantas que producen flores hembra, no capaces de autopolinización.

35

Una planta que sobreexpresa la proteína ACS produce flores machos y hembras en los modos de realización de la combinación de dos elementos genéticos de la invención en los que la proteína CmWIP1 es también sobreexpresada (alelo G presente en estado de homocigoto).

40

Una planta que sobreexpresa la proteína ACS produce flores hembras en los modos de realización de la combinación de dos elementos genéticos de la invención en los que hay ausencia de expresión de una proteína CmWIP1 activa.

45

Por tanto, la invención se refiere también a una planta transformada como se define con anterioridad cuyas flores son machos y hembras y a una planta transformada como se define con anterioridad cuyas flores son exclusivamente hembras.

50

Las plantas transformadas según la invención comprenden todas al menos un segundo elemento genético de la combinación según la invención, escogido entre ácidos nucleicos y polinucleótidos reguladores definidos con anterioridad en una forma artificialmente introducida en su genoma.

La invención se refiere también a cualquier parte de una planta transformada como se define en la presente descripción como la raíz, pero también las partes aéreas como el tallo, las hojas, la flor y sobre todo el grano o el fruto.

55

La invención tiene todavía por objeto una semilla o un grano de planta producida mediante una planta transformada como se define con anterioridad.

Normalmente, esta semilla transformada o este grano transformado comprende una o varias células que comprenden en su genoma una o varias copias de los primeros y segundos elementos genéticos de control como se definen con anterioridad, artificialmente introducidos en dicha planta dicotiledónea, que permiten las síntesis de la proteína CmWIP1 a un nivel elevado o a un nivel bajo, en su caso de forma controlada e inducible.

60

Según un modo de realización preferente de una planta transformada según la invención, se busca expresar de forma controlada la proteína CmWIP1, lo que implica que la planta transformada no contiene, como copia funcional de un polinucleótido que codifica la proteína CmWIP1 únicamente la o las copias que han sido artificialmente introducidas en sus células y, preferentemente, en su genoma, mientras que las secuencias del gen (G/g) que codifica CmWIP1, que se encuentran de forma natural en la planta salvaje, portan al menos una mutación que

65

provoca un detecto en la expresión del gen (G/g).

Las plantas transformadas según la invención son dicotiledóneas, preferentemente pertenecientes a la familia de cucurbitáceas y, en particular, a los géneros escogidos entre:

- 5 *Abobra, Acanthosicyos, Actinostemma, Alsomitra, Ampelosicyos, Anacaona, Apatzingania, Apodanthera, Bambekea, Benincasa, Biswarea, Bolbostemma, Brandegee, Bryonia, Calycophyllum, Cayaponia, Cephalopentandra, Ceratosanthes, Chalema, Cionosicyos, Citrullus, Coccinia, Cogniauxia, Corallocarpus, Crematopus, Ctenolepis, Cucumella, Cucumeropsis, Cucumis, Cucurbita, Cucurbitella, Cyclanthera, Cyclantheropsis, Dactyliandra,*
 10 *Dendrosicyos, Dicoelospermum, Dieterlea, Diplocyclos, Doyerea, Ecballium, Echinocystis, Echinopepon, Edgaria, Elateriopsis, Eureiandra, Fevillea, Gerrardanthus, Gomphogyne, Gurania, Guraniopsis, Gymnopetalum, Gynostemma, Halosicyos, Hanburia, Helmontia, Hemsleya, Herpetospermum, Hodgsonia, Ibervillea, Indofevillea, Kedrostis, Lagenaria, Lemurosicyos, Luffa, Marah, Melancium, Melothria, Melothrianthus, Microsechium, Momordica, Muellerargia, Mukia, Myrmecosicyos, Neoalsomitra, Nothoalsomitra, Odosicyos, Oreosyce, Parasicyos,*
 15 *Penelopeia, Peponium, Peponopsis, Polyclathra, Posadaea, Praecitrullus, Pseudocyclanthera, Pseudosicydium, Psiguria, Pteropepon, Pterosicyos, Raphidiocystis, Ruthalia, Rytidostylis, Schizocarpum, Schizopepon, Sechiopsis, Sechium, Selysia, Seyrigia, Sicana, Sicydium, Sicyos, Sicyosperma, Siolmatra, Siraitia, Solena, Tecunumania, Telfairia, Thladiantha, Trichosanthes, Tricyclandra, Trochomeria, Trochomeriopsis, Tumamoca, Vaseyanthus, Wilbrandia, Xerosicyos, Zanonía, Zehneria, Zombitsia, o Zygosicyos.*

20 Preferentemente, las plantas transformadas pertenecen al género *Cucumis* y a la especie *Cucumis Melo*.

Procedimientos de detección según la invención

25 La identificación del sistema de control del desarrollo del tipo floral por los inventores ha permitido llevar a cabo procedimientos de detección del fenotipo sexual de las plantas extremadamente simples, cuyas características principales se detallan a continuación.

30 La invención se refiere también a un procedimiento de detección de la presencia de un alelo (G) o (g), comprendiendo dicho método las etapas de:

- 1) Poner en contacto una sonda o una pluralidad de sondas de nucleótidos como se definen con anterioridad con la muestra que va a ser ensayada; y
- 35 2) detectar el complejo eventualmente formado entre la o las sondas y el ácido nucleico presente en la muestra.

El procedimiento de detección anterior, puede ser utilizado conjuntamente con el procedimiento de detección de la presencia de un alelo (A) o (a) descrito en la solicitud PCT nº WO 2007/125264, que comprende las etapas de:

- 40 1) poner en contacto una sonda o una pluralidad de sondas de nucleótidos como se definen con anterioridad con la muestra que va a ser ensayada; y
- 2) detectar el complejo eventualmente formado entre la o las sondas y el ácido nucleico presente en la muestra.

45 Estos dos procedimientos de detección permiten seleccionar plantas cuyos fenotipos y genotipos se resumen en la tabla 1.

La detección del complejo entre un ácido nucleico y una sonda se puede hacer mediante cualquier técnica conocida por un experto en la técnica y, en particular utilizando sondas o cebadores marcados, como se describen en la parte "sondas y cebadores según la invención".

50 Estos procedimientos son particularmente ventajosos ya que evitan tener que cultivar una planta dicotiledónea para conocer su fenotipo sexual. Es posible así realizar la detección del fenotipo sexual de una muestra muy grande de plantas a un coste menor.

Procedimientos de selección según la invención.

Los procedimientos de detección anteriores se pueden utilizar en los procedimientos de selección detallados a continuación.

60 La invención tiene también por objeto un procedimiento de selección del tipo floral de una planta perteneciente al género cucurbitácea, caracterizado porque comprende las etapas de:

- a) Determinar la presencia de alelos (G) y (g) en una planta de interés perteneciente a la familia de las cucurbitáceas, por ejemplo, utilizando ácidos nucleicos como se definen con anterioridad, y

b) seleccionar positivamente la planta que posee el alelo (G) o el alelo (g) en su genoma.

El procedimiento de selección anterior puede ser utilizado conjuntamente con el procedimiento de selección del tipo floral de una planta perteneciente al género cucurbitáceas que se describe en la solicitud PCT nº WO 2007/125264, que se caracteriza porque comprende las etapas de:

a) determinar la presencia de los alelos (A) y (a) en una planta de interés perteneciente a la familia de las cucurbitáceas, por ejemplo, utilizando ácidos nucleicos como se definen con anterioridad o un anticuerpo dirigido contra la proteína ACS y

b) seleccionar positivamente la planta que posee el alelo (A) o el alelo (a) en su genoma.

La determinación de la presencia de los alelos (A), (a), (G) y (g) se puede efectuar por tanto de forma ventajosa llevando a cabo los procedimientos de detección anteriores.

El experto en la técnica puede combinar fácilmente los procedimientos de selección anteriormente definidos, que se hace referencia en la Tabla 1, que proporciona la correspondencia entre genotipo y fenotipo, para obtener plantas de fenotipo únicamente hembra o hermafroditas, por ejemplo.

Procedimiento de obtención de una planta transformada según la invención

Las plantas transformadas según la invención pueden ser obtenidas gracias a uno cualquiera de los numerosos procedimientos que forman parte actualmente de los conocimientos generales de un experto en la técnica.

Se describen a continuación procedimientos de obtención de plantas transformadas según la invención.

Procedimiento de obtención de plantas transformadas mediante "TILLING"

El "TILLING" (para "Targeted Induced Local Lesions In Genomes") es un método de genética in verso que está basado en la capacidad de una endonucleasa para detectar los malapareamientos en un enlace doble de ADN y realizar una desconexión del ADN a nivel de las bases no apareadas. Esta técnica permite detectar puntos de mutación únicos generados por la exposición de las plantas a un compuesto químico mutagénico. La técnica TILLING permite por tanto la identificación de una serie de alelos de un gen dado y está particularmente bien adaptada para la utilización de procedimientos de selección de alto rendimiento que permiten la selección, en genes diana de interés, de mutaciones inducidas por mutagénesis química.

El método de TILLING es bien conocido por un experto en la técnica, se describe particularmente por Mc Callum et al. (2000, Plant Physiology, Vol. 123: 439-442).

Para las necesidades de la presente invención, la técnica de TILLING está particularmente bien adaptada a la obtención y la selección de plantas en las que se ha introducido artificialmente el alelo (g) del segundo elemento de control genético (G/g).

Según la invención, la técnica de TILLING puede ser utilizada también con éxito para la obtención y la selección de plantas en las que se ha introducido artificialmente el alelo (a) del primer elemento genético (A/a).

Por definición, considerando lo que antecede, la técnica de TILLING está adaptada para la obtención y la selección de plantas en las que se ha introducido artificialmente al mismo tiempo el alelo (g) del segundo elemento de control genético (G/g) y el alelo (a) del primer elemento genético (A/a).

La obtención de plantas dicotiledóneas artificialmente mutadas en el gen que codifica la proteína CmWIP1 se puede realizar utilizando la técnica de TILLING, por ejemplo, según un procedimiento que comprende las etapas siguientes:

a) generar una colección de plantas dicotiledóneas mutantes mediante mutagénesis química;

b) seleccionar en la colección de plantas mutantes generadas en la etapa a) las plantas que poseen una mutación o más de una mutación en el gen que codifica la proteína CmWIP1,

c) seleccionar, entre las plantas mutantes seleccionadas en la etapa b), las plantas que expresan el fenotipo (g).

En ciertos modos de realización del procedimiento anterior, la etapa a) se realiza mediante mutagénesis química de semillas de plantas dicotiledóneas de interés, mediante exposición de las semillas a un agente mutagénico, por ejemplo, etil-metanosulfonato, por ejemplo, utilizando el método descrito por Koornbeef et al. (1982, Mutat Res, Vol. 93: 109-123).

Seguidamente, se genera una colección de plantas M1 a partir de semillas previamente expuestas al agente

mutagénico. Las plantas M1 son seguidamente autofecundadas con el fin de generar una colección de plantas M2 que es la colección de plantas generada en la etapa a) del procedimiento.

5 Seguidamente, en la etapa b), se extrae el ADN de cada planta de la colección de plantas generada en la etapa a) y se realiza una amplificación del ácido nucleico del gen diana, en este caso el gen que codifica la proteína CmWIP1, y se busca la presencia de mutación(es) en la secuencia del gen diana, mediante comparación con la secuencia del gen diana no mutado. Seguidamente, se seleccionan las plantas mutadas en la secuencia del gen que codifica el gen diana, en este caso el gen que codifica la proteína CmWIP1.

10 En ciertos modos de realización de la etapa b), el ADN se extrae a partir de varias plantas M2, por ejemplo, 20 plantas M2 y se mezcla en un primer momento y la detección de las mutaciones en la secuencia del gen diana se realiza sobre la mezcla ("pool") de extracto de ADN con el fin de reducir el número de etapas de detección de mutaciones que se debe efectuar.

15 Seguidamente, se realiza una etapa de amplificación de secuencias diana mediante PCR, utilizando cebadores nucleicos apropiados y los amplicones que se generan son calentados, seguidamente enfriados con el fin de generar heteroduplex de ADN entre el ADN original de una planta no mutada sobre el ácido nucleico diana y el ADN procedente de una etapa mutada sobre el ácido nucleico diana.

20 Seguidamente, los heteroduplex de ADN se incuban en presencia de una endonucleasa que se escinde a nivel de los malapareamientos. Seguidamente, los heteroduplex escindidos son desnaturalizados y separados. Seguidamente las cadenas de ADN separadas se someten a la etapa de detección de mutación(es) propiamente dichas, por ejemplo, mediante electroforesis o bien mediante HPLC en condiciones desnaturalizantes (DHPLC).

25 En ciertos modos de realización de la etapa b), la detección de mutación(es) en el gen diana se realiza mediante la técnica de HPLC en condiciones desnaturalizantes ("DHPLC"), como se describe, por ejemplo, por Mc Callum et al. (2000, Plant Physiol., Vol. 123: 439 - 442).

30 Seguidamente, en la etapa c), se selecciona, entre las plantas mutadas sobre el gen diana, en este caso las plantas mutadas en el gen que codifica la proteína CmWIP1, las plantas que expresan el fenotipo asociado al alelo (g) del elemento genético (G/g).

35 Como ya se mencionó con anterioridad, la técnica de TILLING puede ser utilizada, según la presente invención, para la obtención de plantas transformadas que comprenden una cualquiera de las combinaciones de alelos (G/g) y (A/a) descritas en la presente invención.

Consecuentemente, en ciertos modos de realización del procedimiento que antecede, se pueden seleccionar en la etapa b), las plantas (i) que poseen una mutación o más de una mutación en el gen que codifica la proteína CmWIP1 y (ii) que poseen una mutación o más de una mutación en el gen que codifica la proteína ACS.

40 En estos modos de realización particulares se selecciona entonces en la etapa c), entre las plantas mutadas sobre los dos genes diana, es decir, las plantas mutadas en el gen que codifica la proteína CmWIP1 y en el gen que codifica la proteína ACS, las plantas que expresan al mismo tiempo el fenotipo asociado al alelo (g) del elemento genético (G/g) y el fenotipo asociado al alelo (a) del elemento genético (A/a).

45 La presente invención tiene también por objeto plantas dicotiledóneas de tipo floral modificado en el genoma en las que se ha introducido al menos una mutación del gen que codifica la proteína CmWIP1.

50 La presente invención se refiere también a plantas dicotiledóneas de tipo floral modificado que han sido artificialmente mutadas en la secuencia del gen que codifica la proteína CmWIP1, expresando dichas plantas el fenotipo asociado al alelo (g) del elemento genético (G/g).

55 La presente invención tiene también por objeto plantas dicotiledóneas de tipo floral modificado en el genoma en las que se ha introducido (i) al menos una mutación en el gen que codifica la proteína CmWIP1 y (ii) al menos una mutación en el gen que codifica la proteína ACS.

60 La presente invención se refiere también a plantas dicotiledóneas de tipo floral modificado que han sido artificialmente mutadas (i) en la secuencia del gen que codifica la proteína CmWIP1 y (ii) en la secuencia del gen que codifica la proteína ACS, expresando dichas plantas al mismo tiempo (i) el fenotipo asociado al alelo (g) del elemento genético (G/g) y el fenotipo asociado al alelo (a) del elemento genético (G/g).

Otros procedimientos de obtención de plantas transformadas

65 La invención se refiere en primer lugar a un procedimiento para la obtención de una planta transformada destinado a insertar el alelo (G) en una planta que no comprende este alelo.

La invención por tanto tiene por objeto un procedimiento para la obtención de una planta transformada, perteneciente a la familia de las cucurbitáceas, que porta flores hembras, caracterizado porque comprende las etapas siguientes:

- 5 a) transformación de al menos una célula vegetal de una planta de interés que no porta el alelo (G) en su genoma, por una secuencia de nucleótidos (NG); o un vector recombinante que comprende este ácido nucleico;
- b) selección de las células transformadas obtenidas en la etapa a) que se han integrado en su genoma, el ácido nucleico (NG);
- 10 c) regeneración de una planta transformada a partir de las células transformadas en la etapa b).

Este tipo de procedimiento es particularmente útil ya que permite insertar el alelo (G) en el genoma de una planta, que presentará así un fenotipo monoico o andromonoico.

La invención tiene también por objeto un procedimiento de transformación de plantas destinado a suprimir el alelo (G) en una planta o a sustituir el alelo (G) por un alelo (g), de forma que se obtenga una planta de fenotipo hermafrodita o una planta de tipo hembra.

- 20 La invención por tanto tiene por objeto un procedimiento para la obtención de una planta transformada, perteneciente a la familia de las cucurbitáceas que porta flores hermafroditas o flores hembras, caracterizado porque comprende las etapas siguientes:

- a) la sustitución en una planta del alelo (G) por un alelo (g),

La presente invención tiene también por objeto plantas dicotiledóneas de tipo floral modificado en el genoma en las que se ha introducido al menos una mutación del gen que codifica la proteína CmWIP1.

La presente invención se refiere también a plantas dicotiledóneas de tipo floral modificado que han sido artificialmente mutadas en la secuencia del gen que codifica la proteína CmWIP1, expresando dichas plantas el fenotipo asociado al alelo (g) del elemento genético (G/g).

La presente invención tiene también por objeto plantas dicotiledóneas de tipo floral modificado en el genoma en las que se ha introducido (i) al menos una mutación en el gen que codifica la proteína CmWIP1 (ii) al menos una mutación en el gen que codifica la proteína ACS.

La presente invención se refiere también a plantas dicotiledóneas de tipo floral modificado que han sido artificialmente mutadas (i) en la secuencia del gen que codifica la proteína CmWIP1 y(ii) en la secuencia del gen que codifica la proteína ACS, expresando dichas plantas al mismo (i) el fenotipo asociado al alelo (g) del elemento genético (G/g) y el fenotipo asociado al alelo (a) del elemento genético (G/g).

Otros procedimientos de obtención de plantas transformadas

La invención se refiere en primer lugar a un procedimiento para la obtención de una planta transformada dirigido a insertar el alelo (G) en una planta que no comprende este alelo.

Por tanto, la invención tiene por objeto un procedimiento para la obtención de una planta transformada, perteneciente a la familia de las cucurbitáceas, que porta flores hembras, caracterizado porque comprende las etapas siguientes:

- 50 a) transformación de al menos una célula vegetal de una planta de interés que no porta el alelo (G) en su genoma, por una secuencia de nucleótidos (NG); o un vector recombinante que comprende este ácido nucleico;
- b) selección de las células transformadas obtenidas en la etapa a) que han integrado en su genoma el ácido nucleico (NG);
- 55 c) regeneración de una planta transformada a partir de las células transformadas obtenidas en la etapa b).

Este tipo de procedimiento es particularmente útil ya que permite insertar el alelo (G) en el genoma de una planta, que presentará así un fenotipo monoico o andromonoico.

La invención tiene también por objeto un procedimiento de transformación de plantas destinado a suprimir el alelo (G) en una planta o sustituir el alelo (G) por un alelo (g) de forma que se obtenga una planta de fenotipo hermafrodita o una planta de tipo hembra.

Por tanto, la invención tiene por objeto un procedimiento para la obtención de una planta transformada,

perteneciente a la familia de las cucurbitáceas, que porta flores hermafroditas o flores hembras, caracterizado porque comprende las etapas siguientes:

a) la sustitución en una planta del alelo (G) por un alelo (g),

b) selección de las células transformadas obtenidas en la etapa (a) que han integrado en su genoma el alelo (g);

c) regeneración de una planta transformada a partir de las células transformadas de la etapa b).

Sin que esto forme parte de la invención, el procedimiento puede comprender todavía una etapa d) de crecimiento de plantas obtenidas en la etapa c) para la obtención de una que ya no porte alelo (G).

En un primer modo de realización del procedimiento anterior, la etapa a) consiste en transformar una planta que comprende el alelo (G) en su genoma por un ácido nucleico de tipo "antisentido" como se define con anterioridad, y seleccionar las plantas que ya no comprenden el alelo (G).

Se puede obtener un resultado idéntico utilizando fenómenos de recombinación homóloga destinados a sustituir totalmente o en parte el ácido nucleico (NG) por un ácido nucleico de estructura alterada, que no permita obtener un fenotipo correspondiente al alelo (G).

Este ácido nucleico de estructura alterada puede consistir en un polinucleótido regulador (Pg) o un ácido nucleico que codifica una proteína CmWIP1 alterada en su secuencia.

Por tanto, la invención tiene por objeto un procedimiento para la obtención de una planta transformada, perteneciente a la familia de las cucurbitáceas, que porta flores hermafroditas, caracterizado porque comprende las etapas siguientes:

a) transformación de al menos una célula vegetal de una planta de interés que comprende un alelo (G) por un polinucleótido regulador (Pg) o por un ácido nucleico que codifica una proteína CmWIP1 alterada; o un vector recombinante que comprende este ácido nucleico;

b) selección de células transformadas obtenidas en la etapa a) que han integrado en su genoma al menos una copia de un polinucleótido regulador (Pg) o un ácido nucleico que codifica una proteína CmWIP1 alterada;

c) regeneración de una planta transformada a partir de las células transformadas obtenidas en la etapa b).

Sin que esto forme parte de la invención, el procedimiento puede comprender todavía una etapa d) de crecimiento de plantas obtenidas en la etapa c) para la obtención de una que ya no porte alelo (G).

Este tipo de procedimiento es particularmente útil ya que permite obtener plantas que ya no comprenden alelo (G) y que son de tipo hermafrodita o ginoico.

El procedimiento anterior se puede llevar a cabo con el procedimiento de transformación de plantas dirigido a insertar el alelo (A) que se describe en la solicitud PCT nº WO 2007/125364.

Este procedimiento anterior para la obtención de una planta transformada perteneciente a la familia de las cucurbitáceas, que porta flores hembras, se caracteriza porque comprende las etapas siguientes:

a) transformación de al menos una célula vegetal de una planta de interés que no comprende el alelo (A) en su genoma, por una secuencia de nucleótidos (NA); o un vector recombinante que comprende este ácido nucleico;

b) selección de las células transformadas obtenidas en la etapa a) que han integrado en su genoma el ácido nucleico (NA);

c) regeneración de una planta transformada a partir de las células transformadas obtenidas en la etapa b).

La invención se refiere igualmente a un procedimiento de transformación de plantas destinado a sustituir el alelo (A) por el alelo (a).

El procedimiento anterior se puede llevar a cabo con el procedimiento de transformación de plantas destinado a insertar el alelo (A) que se describe en la solicitud PCT nº WO 2007/125364.

Este procedimiento anterior para la obtención de una planta transformada, perteneciente a la familia de las cucurbitáceas, que porta flores hermafroditas, se caracteriza porque comprende las etapas siguientes:

a) la sustitución en una planta del alelo (A) por un alelo (a),

b) selección de las células transformadas obtenidas en la etapa a) que han integrado en su genoma el alelo (A),

c) regeneración de una planta transformada a partir de las células transformadas obtenidas en la etapa b).

Sin que esto forme parte de la invención, el procedimiento puede comprender todavía una etapa d) de crecimiento de plantas obtenidas en la etapa c) para la obtención de una que ya no porte el alelo (A).

Por tanto, los procedimientos anteriores pueden ser combinados entre ellos fundiéndose en la Tabla 1, de forma que se obtengan plantas exclusivamente hembras o exclusivamente hermafroditas, cuyo interés industrial se expuso con anterioridad.

Para simplificar los procedimientos para la obtención de una planta transformada exclusivamente hembra o exclusivamente hermafrodita, es posible realizar una etapa previa en los procedimientos definidos con anterioridad, en el transcurso de la cual las mutaciones de los genes (A/a) y (G/g) presentes de forma natural en la planta se efectúan, por ejemplo, mediante inserción aleatoria del transposón *Mutator* en una población de plantas de fenotipo salvaje, detectando seguidamente en los mutantes obtenidos, aquellos entre estos mutantes que son de genotipo (aagg), por ejemplo, por medio de sondas o de cebadores de nucleótidos descritos en los ejemplos.

Según este modo de realización preferente, la planta transformada según la invención se caracteriza porque posee un genotipo (aagg) y presenta flores exclusivamente hermafroditas.

En un modo de realización de los procedimientos de obtención de una planta transformada anteriormente descritos, el polinucleótido (NG), cuando es utilizado, comprende un polinucleótido regulador (PG) activador inducible.

Las plantas obtenidas según el procedimiento que anteceden portan exclusivamente flores hermafroditas y, por tanto, son particularmente interesantes desde un punto de vista industrial, ya que no son capaces de una autopolinización.

Por tanto, estas plantas pueden ser utilizadas en procedimientos de creación de líneas puras.

Procedimientos de transformación de las plantas según la invención.

En el contexto de esta invención pueden ser utilizados los métodos más extendidos para introducir ácidos nucleicos en células vegetales.

La transformación de células vegetales se puede realizar mediante diversos métodos como, por ejemplo, la transferencia de los vectores anteriormente mencionados en los protoplastos vegetales después de una incubación de estos últimos en una solución de polietilenglicol en presencia de cationes divalentes divalentes (Ca²⁺), electroporación (Fromm et al. 1985), la utilización de un cañón de partículas o microinyección citoplásmica o nuclear (Neuhaus et al, 1987).

Uno de los métodos de transformación de células vegetales que puede ser utilizado en el contexto de la invención es la infección de las células vegetales mediante un hospedante celular bacteriano que comprende el vector que contiene la secuencia de interés. El hospedante celular puede ser *Agrobacterium tumefaciens* (An et al. 1986), o *A. rhizogenes* (Guerche et al. 1987).

De forma preferida, la transformación de las células vegetales se realiza mediante la transferencia de la región T del plásmido circular extracromosómico inductor de tumores Ti de *A. Tumefaciens*, utilizando un sistema binario (Watson et al., 1994). Para hacer esto, se construyen dos vectores. En uno de estos vectores, la región de ADN-T fue eliminada mediante delección, con la excepción de los bordes de derecha e izquierda, siendo insertado un gen marcador entre ellos para permitir la selección de las células de plantas. El otro miembro del sistema binario es un plásmido Ti auxiliar, plásmido modificado que ya no tiene ADN-T pero contiene siempre los genes de virulencia *vir* necesarios para la transformación de la célula vegetal. Este plásmido es mantenido en *Agrobacterium*.

Según un modo preferido, el método descrito por Ishida et al. (1996) puede ser aplicado para la transformación de dicotiledones. Según otro protocolo, la transformación se realiza según el método descrito por Finer et al. (1992) utilizando un cañón de partículas de wolframio o de oro.

La presente invención se ilustra también, sin por ello limitarla, en los ejemplos siguientes.

Ejemplos

Ejemplo 1: Identificación del elemento genético de control (G/g)

La clonación del lugar g basada en cartografía se realiza mediante selección de los elementos de recombinación en

una población de 12660 plantas que segregan el alelo g. Una planta de generación F1 procedente del crecimiento de PI124112 (genotipo monoico A-G-) x Gynadou (genotipos ginoicos A-gg) fue retrocruzada con Gynadou con el fin de generar una población de generación F2, para fines de análisis. El lugar g estaba localizado en un intervalo entre los marcadores M261 y M365 sobre el cromosoma 4 (véase la figura 1A).

Los marcadores M261 y M365 fueron anclados en cuatro clones BAC diferentes procedentes de una biblioteca genómica de genotipo monoico, con el fin de generar un mapa físico del lugar.

Un análisis de las SNP en este intervalo mostró dos recombinantes muy críticos, lo que permitió reducir de forma última el lugar g a una región de 1,4 kb en el clo BAC monoico 102 (véase la figura 1C). La anotación de este clon permitió identificar 8 marcos abiertos de lectura (ORFs) en esta región (véase la figura 1B).

No se encontró ningún polimorfismo significativo en los 8 marcos abiertos de lectura que rodean este intervalo, cuando la región correspondiente fue secuenciada en el genotipo ginoico que porta el alelo recesivo.

No obstante, se encontró una inserción de 8 kb en el interior de la región de 1,4 kb delimitada por la clonación posicional (Figura 1B). Esta inserción corresponde al transposón de ADN de familia *hAT*, denominado Gyno-hAT (Secuencia nº 14) un grupo muy extendido de elementos transportables (TEs).

Debido a que este transposón de ADN fue encontrado mediante clonación posicional en el intervalo más corto, y debido a que este transposón corresponde al único polimorfismo significativo entre los genotipos monoicos y ginoicos en este lugar, este elemento transportable (TE) tiene una probabilidad muy elevada de ser responsable del fenotipo de determinación del sexo.

Ejemplo 2: caracterización del elemento genético de control (G/g)

Debido a que los elementos transportables (TEs) están sometidos a una inhibición ("silenciado" epigenética que induce una sobreexpresión de la transposición y del agrupamiento genómico ilegítimo, se examinó el estado de metilación del ADN del transposón en el lugar g, mediante amplificación PCR sensible a la endonucleasa McrBC.

Se observó que el transposón está altamente metilado (véase la figura 2).

Se analizó la extensión potencial de la metilación del ADN de los genes del entorno del lugar g realizando una amplificación PCR sensible a la endonucleasa McrBC sobre los tres marcos abiertos de lectura (ORFs) más próximos al transposón.

Este análisis mostró que el único marco abierto de lectura de referencia ORF3 que está localizado a una distancia inferior a 1 kb del lugar g, estaba específicamente metilado en el genotipo ginoico que porta el transposón (Figura 3A). El marco abierto de lectura ORF3 codifica un factor de transcripción de dedos de zinc C2H2 y es homólogo a los miembros de la subfamilia WIP específica de las plantas (Sagasser et al., 2002).

Con el fin de obtener una información más precisa sobre los perfiles de metilación del ADN de la secuencia genómica CmWIP1, se seleccionó la totalidad del gen CmWIP1 mediante PCR cuantitativa sensible a la endonucleasa McrBC en las plantas PI124112 (G-) y Gynadou (gg) (véase la figura 3B). Se mostró que el ADN genómico de Gynadou estaba altamente metilado en la región promotora en las proximidades del sitio de inicio de la transcripción, en comparación con el genotipo monoico (Figura 3B).

La metilación de ADN era también más elevada en el primer exón, el intrón y en las proximidades de la secuencia 3' UTR del genotipo ginoico, pero de forma menor.

Con el fin de proseguir el estudio de los perfiles de metilación del ADN de CmWIP1, se realizó un secuenciado en bisulfito sobre la región altamente metilada del promotor CmWIP1. El secuenciado en bisulfito conformó el fenotipo de hipermetilación de las plantas ginoicas.

Debe entenderse que la metilación era siempre más elevada en el promotor de las plantas que portan el transposón al lugar g y se observó también la metilación en los residuos de citosina que estaban completamente no metilados en el genotipo monoico (véase la Figura 3C).

No obstante, de forma interesante, se apreció una metilación significativa del ADN en el promotor de PI124112.

El hecho de que se detectara una metilación significativa del ADN en el promotor CmWIP1 podría explicar la extensión considerable de la inhibición de expresión ("silenciado") cuando era insertado un elemento transportable (TE) en las proximidades. La hipermetilación de CmWIP1 se confirmó en los diferentes fondos genéticos recesivos para el alelo g, lo que refuerza la correlación entre la presencia del ADN de transposón y el estado de metilación más elevado de este gen (Figura 4).

Estos resultados sugieren fuertemente que la hipermetilación de CmWIP1, que es debida a una extensión de la inhibición debida al transposón (“silenciado”), podría ser la causa de la determinación del sexo en las plantas que portan el alelo g.

- 5 Se asoció la metilación excesiva de los residuos de citosina en la región promotora a una expresión génica reducida, lo que podría conducir a una disminución de los niveles de producción de transcritos de CmWIP1.

Ejemplo 3: perfiles de regulación de expresión del elemento de control (G/g)

- 10 Con el fin de ensayar la hipótesis según la cual hipermetilación de la región promotora del gen CmWIP1 podría inducir una disminución de la expresión de este gen, se analizaron los perfiles de regulación del ARNm de CmWIP1. Los niveles de expresión de CmWIP1 se determinaron mediante PCR cuantitativa durante la determinación del sexo y el desarrollo floral.

- 15 Los niveles relativos de transcritos se compararon en flores machos de PI124112 (G-) y en flores hembras de Gynadou (gg).

- 20 De forma general, la determinación del sexo y del desarrollo floral en las cucurbitáceas se dividieron en 12 fases, que van desde el inicio del meristemo floral en la antesis (Bai et al., 2004). Los procedimientos de determinación del sexo, es decir, la detención del órgano sexual inapropiado en la yema floral bisexual inicial, tiene lugar aproximadamente en las etapas 7 y 8.

- 25 En el presente caso, se ha mostrado que el gen CmWIP1 era expresado fuertemente en las yemas florales machos en la fase 6 y que su expresión decrecía rápidamente en las etapas posteriores (Figura 5). Por el contrario, en las yemas florales hembras, el ARNm de CmWIP1 fue detectado a un nivel muy bajo, cualquiera que sea la fase del desarrollo floral. De forma destacable, la expresión elevada y transitoria de CmWIP1 en las yemas florales machos en una fase precoz del desarrollo reproductivo coincide con la detención del desarrollo de los carpelos que se describe en trabajos recientes sobre cucurbitáceas (Hao et al., 2003; Bai et al., 2004).

- 30 Con el fin de determinar el perfil de expresión de espacio-tiempo del ARNm de CmWIP1, se realizaron hibridaciones *in situ* de las flores machos de PI142112 (G-) y de flores hembras de Gynadou (gg). El ARNm de CmWIP1 fue detectado de forma precoz durante el desarrollo floral alrededor de la fase 6 en yemas florales machos, lo que es acorde con los resultados de análisis mediante PCR cuantitativa.

- 35 Se encontró que la localización de ARNm de CmWIP1 estaba fuertemente confinada en la cuarta espiral de las yemas florales machos. Esta localización corresponde al carpelo primario que se detendrá en su desarrollo en la fase inmediatamente posterior, en las flores machos.

- 40 El ARNm de CmWIP1 no fue detectable en las yemas florales hembras, en ninguna de las fases de desarrollo. Estos resultados confirman la expresión muy reducida que ya se mostró mediante el análisis por PCT cuantitativo en flores machos de Gynadou (véase la figura 7).

- 45 Los niveles de expresión de CmWIP1 eran también muy bajos durante las fases de desarrollo asociadas a la determinación del sexo (hasta la fase 6) en las yemas florales hermafroditas (aagg) y en las yemas florales hembras de genotipo monoico (Figura 6). Dicho de otro modo, la expresión de CmWIP1 en fase precoz del desarrollo floral era siempre bajo en las flores que se desarrollaron en estructura hembra madura en todos los genotipos. El conjunto de estos resultados sugiere fuertemente que CmWIP1 tiene una función en la determinación del sexo en el melón, en particular en la detención del desarrollo de los carpelos en las yemas florales machos.

- 50 Ejemplo 4: determinación del tipo floral bajo el control del elemento (G/g)

Con el fin de profundizar el estudio de la función de CmWIP1 en la determinación del sexo y el desarrollo floral en el melón, se desarrolló una propuesta de genética inversa con el fin de identificar la función de esta proteína.

- 55 Se utilizó una estrategia que utiliza la técnica de TILLING (para Targeted Induced Local-scale Lesions in Genome”) con el fin de seleccionar una población de genotipo monoico (A-G-) mutagenizada con etilmetanosulfonato (EMS).

- 60 La elección de la población se centró en los dos exones de CmWIP1. Según la alineación con los homólogos cercanos, la proteína, CmWIP1 está compuesta por dos dominios diferentes, respectivamente, un dominio N-terminal específico y un dominio C- terminal conservado en proteínas WIP con dedos de zinc.

- 65 Se identificaron tres mutantes en la secuencia que codifica CmWIP1 que tiene una sustitución única de base. Las sustituciones de nucleótidos dan lugar a las modificaciones de aminoácidos siguientes: L77F, P193L y S306F. Las sustituciones de aminoácidos estaban localizadas ya sea en la parte específica N-terminal de CmWIP1 o bien en el dominio C-terminal altamente conservado de la proteína.

Se observaron los fenotipos florales en plantas mutantes de homocigotos M2, en comparación con las plantas homocigotos de tipo salvaje de la misma familia EMS.

5 Los tres alelos mutantes mostraron un nuevo desarrollo de los carpelos, en comparación con flores machos de tipo salvaje (Figura 7).

Los mutantes P193L y S306F devinieron completamente ginoicos, lo que confirma que CmWIP1 es el gen de la ginoesia. El mutante L77F es un mutante débil.

10 Los resultados de los ejemplos muestran que el epiallelo de CmWIP1 que se encontró en plantas ginoicas, es claramente transmisible y se co-segrega con el fenotipo, ya que se observaron relaciones genotipos-fenotipos en diferentes fondos genéticos (véase la Figura 4) y en 12 mil gametos mediante experimentos de clonación posicional.

15 De forma interesante y de acuerdo con la regulación epigenética, se observaron ocasionalmente fenotipos revertientes durante el desarrollo somático, que estaban correlacionados con la desmetilación de la secuencia de ADN de CmWIP1.

20 Los resultados de los ejemplos, que demuestran la implicación de la regulación del gen CmWIP1 en la determinación del sexo floral, son tanto más interesantes por cuanto los genes que codifican proteínas en dedos de zinc de tipo WIP se encuentran en una amplia diversidad de plantas, comprendidas las monocotiledóneas, los gimnospermas y los musgos. Además, se recuerda que la conservación de los dominios C-terminales de las proteínas en dedos de zinc de tipo WIP es muy elevada.

25 En consecuencia, la realización de un control de la regulación de CmWIP1, o de genes de la misma familia en genomas de plantas dicotiledóneas, monocotiledóneas, gimnospermas y musgos, a nivel transcripcional o post-transcripcional durante el desarrollo floral precoz, es de naturaleza que orienta de forma controlada el desarrollo de tipo floral en las plantas.

30 Ejemplo 5: expresión espacial y temporal del elemento genético de control (A/a)

Para estudiar la expresión del elemento genético de control A/a bajo la forma de alelo A, se efectuaron hibridaciones *in situ* utilizando sondas específicas del alelo A sobre plantas y, más precisamente, sobre meristemos florales de plantas machos, hembras y hermafroditas, de genotipo AA GG, aa GG, AA gg y aa gg. En los meristemos florales A, la expresión es localmente elevada y la señal de hibridación es detectada de forma específica en los primordios de los carpelos de flores hembras y hermafroditas de las plantas monoicas, andromonoicas, ginoicas y hermafroditas. Haciendo referencia a las diferentes fases de desarrollo de la flor descrito para el pepino (Bai et al., 2004), parece que en el melón el gen (A/a) es expresado en una fase precoz del desarrollo de los meristemos florales antes de que se pueda efectuar una distinción morfológica entre las flores machos y las flores hembras.

40 En las flores machos y hermafroditas, no se detectó ninguna expresión en las anteras. Estos datos indican que la expresión del alelo A en los carpelos de flores hembra evita el desarrollo de los estambres. Debido a que, en las flores hermafroditas, el alelo recesivo (a) presenta el mismo perfil de expresión que el alelo A en flores hembras, se puede concluir que la función del gen A depende de su especificidad de expresión de tejidos, así como de la naturaleza de la proteína ACS sintetizada.

45 Ejemplo 6: transgénesis en *Arabidopsis thaliana*

Se estudiaron los efectos potenciales del gen A/a y de la proteína ACS sobre el fenotipo sexual floral y la arquitectura de la flor en plantas no pertenecientes a las cucurbitáceas mediante transformación de *Arabidopsis thaliana* por *Agrobacterium*. Las plantas transgénicas de *Arabidopsis* que portan el alelo de melón A o a presentan un fenotipo a nivel de la arquitectura floral y de las silicuas (Figuras 9A y 9B). En efecto, las silicuas de los transformantes de *Arabidopsis* son más cortas que las de una planta *Arabidopsis* salvaje y la arquitectura de las flores transformantes de *Arabidopsis* se ve muy afectada. Estos resultados permiten ampliar la utilización del gen de melón (A/a) a plantas dicotiledóneas no pertenecientes a la familia de las cucurbitáceas.

55 En resumen, gracias a la clonación del gen A (denominado CmACS-7) y del gen G (denominado CmWIP1) se ha demostrado que la expresión de la proteína CmWIP1 en el carpelo inhibe el desarrollo del carpelo y la expresión de CmACS-7 o cualquier otra enzima capaz de producir etileno en el carpelo, inhibe el desarrollo de estambres. Por tanto, un experto en la técnica puede expresar la proteína CmWIP1 en el carpelo de una planta, preferentemente una cucurbitácea, para bloquear el desarrollo del carpelo o, por el contrario, inhibir la expresión de la proteína CmWIP1 en el carpelo para favorecer el desarrollo del carpelo.

65 Un experto en la técnica puede expresar también la proteína CmACS-7 en el carpelo de una planta, preferentemente una cucurbitácea para bloquear el desarrollo de los estambres o, por el contrario, inhibir la expresión de la proteína CmWIP1 en el carpelo para favorecer el desarrollo de los estambres. Por tanto, la combinación de la expresión de las proteínas activas o mutantes de CmACS-7 y CmWIP1 permitirá la generación de diferentes tipos florales

descritos en la tabla 1.

Los autores han identificado también los ortólogos de CmACS-7 y CmWIP1 en otras especies. En el pepino (*Cucumis sativa*) el lugar M codifica el ortólogo de SEQ ID N°.

5

Tabla de secuencias

SEQ ID	Tipo	Denominación
1	Ácido nucleico	Secuencia genómica que codifica ACS
2	Ácido nucleico	Secuencia genómica "a" con polinucleótido regulador
3	Péptido	Proteína ACS
4	Ácido nucleico	Cebador-marcados M8
5	Ácido nucleico	Cebador-marcador M30
6	Ácido nucleico	Sonda para amplicón M8/M30
7	Ácido nucleico	Sonda para SEQ ID N° 1
8	Ácido nucleico	Sonda para SEQ ID N° 2
9	Ácido nucleico	Vector PEC2 con gen A
10	Ácido nucleico	Secuencia genómica que codifica CmWIP1
11	Ácido nucleico	ADNc que codifica CmWIP1
12	Péptido	Proteína CmWIP1
13	Ácido nucleico	Promotor de CmWIP1
14	Ácido nucleico	Transposón Gyno-hAT
15	Ácido nucleico	Gen CmWIP1 y el transposón Gyno-hAT insertado acotado
16	péptido	Proteína homóloga a CmWIP1 funcional.

Referencias

- 10 An et al., (1986) Plant Physiol. 81, 86-91
- Aoyama T et al., (1997) The Plant Journal, vol.11 (3):605-612.
- Ausubel et al., (1997) Current protocols in molecular biology
- 15 Beaucage et al. (1981), Tetrahedron Lett., 22:1859-1862.
- Berbal, 1984.
- 20 Bevan et al., Nucleic Acids Research, vol.12:8711-8721.
- Brown et al. (1979), Methods Enzymol., 68:109-151.
- Causse et al. (1995) Molecular Breeding 1: 259-272.
- 25 Christensen et al. (1996), Transgenic. Res., 5:213
- Finer et al. (1992) Plant Cell Report, 11, 323-328
- 30 FROMM M. et al. (1990), Biotechnology, 8:833-839
- GAIT (ed.), (1984). Nucleic Acid Hybridization.
- 35 GORLACH J, VOLRATH S, KNAUF-BEITER G, HENGY G, BECKHOVE U, KOGEL KH, OOSTENDORP M, STAUB T, WARD E, KESSMANN H, RYALS J. (1996) Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. Plant Cell 8:629-43
- GLOVER (ed.), 1985. DNA Cloning: A Practical Approach, Volumes I and II Oligonucleotide Synthesis, MRL Press, Ltd., Oxford, U.K.

- Guerche et al. (1987), *Mol Gen. Genet* 206, 382
- 5 HAMES and HIGGINS, 1985. *Nucleic Acid Hybridization: a practical approach*, Hames & Higgins Ed. IRL Press, Oxford.
- HAJDUKIEWICZ, P. SVAB. Z. AND MALIGA P. *Plant Mol. Biol.* 25 (6), 989-994 (1994).
- Ishida et al. (1996) *Nature biotechnology* 14, 745-750
- 10 JEFFERSON, 1987, *Plant Molecular Biology Reporter*, vol.5:387-405.
- Kay et al., (1987) *Science* 236, 4805
- 15 Kahana, A., Silberstein, L., Kessler, N., Goldstein, R. S. and Perl-Treves, R. (2000) expression of ACC oxidase genes differs among sex genotypes and sex phases in cucumber. *Plant Mol Biol.* Nov ; 41 (4): 517-528.
- Kamachi, S., Sekimoto, H., Kondo, N. & Sakai, S., (1997). Cloning of a cDNA for a 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase that is expressed during development of female flowers at the apices of *Cucumis sativus* L. *The Plant Cell Physiol.*, 38:1197-206.
- 20 Kohler G and Milstein C., (1975), *Nature*, volume 256:495
- KOOTER, JM., MATZKE, MA., AND MEYER, P. (1999) Listening to the silent genes: transgene silencing, gene regulation and pathogen control. *Trends Plant Sci.* 4, 430-437
- 25 Kozbor et al., (1983), *Hybridoma*, vol.2 (1):7-16.
- Leger OJ et al., (1997), *Hum Antibodies*, vol.8 (1):3-16
- 30 Martineau P et al., (1998), *J. Mol. Biol.* vol.280(1):117-127.
- Martinez, A., Sparks, C., Hart, CA., tompson, J., and Jepson, I. (1999) Ecdysone agonist inducible transcription in transgenic tobacco plants. *Plant J.* 19:97-106
- 35 McNELLIS T W, 1998, *The Plant Journal*, vol.14 (2): 247-257
- Molina A, Hunt MD, Ryals JA (1998) Impaired fungicide activity in plants blocked in disease resistance signal transduction. *Plant Cell* 10:1903-14 NARANG et al. (1979), *Methods Enzymol.*, 68: 90-98.
- 40 Neuhaus et al., (1987).*Theor. Appl. Genet.* 75(1), 30-36
- Reinmann KA et al. (1997), *Aids Res. Hum retroviruses*, vol.13 (11):933-943.
- 45 Ridder R. et al., (1995), *Biotechnology (NY)*, vol.13 (3):255-260.
- SALTER MG et al., 1998, vol.16 (1): 127-132
- Risser, G.and Rode, J.C., 1979. Induction par le nitrate d'argent de fleurs staminées chez des plantes gynoïques de melon (*Cucumis melo* L.). *Annales de l'Amélioration des Plantes*, 29:349-352.
- 50 Rudich, J., Halevy, A.H. and Kedar, N., 1969. Increase of femaleness of three cucurbits by treatment with Ethrel, an ethylene-releasing compound. *Planta*, 86:69-76.
- 55 Sambrook et al., (2001), *Molecular Cloning A-laboratory manual*
- Sanchez Pescador, (1988), *J. Clin. Microbiol.*, 26 (10):1934-1938.
- Urdea et al. (1988), *Nucleic Acids Research*, 11:4937-4957.
- 60 WASSENEGGER, M., AND PÉLISSIER, T. (1998) A model for RNA-mediated gene silencing in higher plants *Plant Mol. Biol.* 37, 349-362
- Watson et al. (1994) *ADN recombinant*, Ed. De Boek Université, 273-292
- 65 YANG F. MOSS LG, PHILIPS GN JR. *Nat. Biotechnol.* 1996 Oct. 14(10):1246-51.

YANG TT, CHENG L. KAIN SR, Nucleic acids Res. 1996, Novembre 15; 24(22):4592-3.

Listado de secuencias

5 <110> INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE INRA
 <120> Combinación de dos elementos genéticos para el control del desarrollo del tipo floral de una planta
 decotiledónea, y utilización en procedimientos de detección y de selección
 <130> V790FR
 10 <160> 16
 <170> PatentIn version 3.3
 <210> 1
 <211> 13380
 <212> DNA
 15 <213> Cucumis melo
 <400> 1
 tatacacatt ttgtaatgat aaaattagaa gactagttga ttaattgttt aggctttatt 60
 atatatcat cataagtctt tttttagacc atttaggttt gttttcgtcg aattaatctt 120
 ataaacacta tttttattcg taaattccgt tgctttctta tttactttat atcaatgctt 180
 taaaacatca atctagtttt taaaaatcaa tatatatggt tgcacacacc attattatcg 240
 tatgttactc tatctattac tgacaaacgt tatgaaattt tattatatat gtaattatct 300
 tttgcagttt tgtcatttaa aatcgttttt cttaaagaa ttatgttggt attttaaaat 360
 tttggctaaa gaatcacgtg gagaattaga tatatcaaac ctttcatctt tgagatgaaa 420
 gattacatca attactatta actaagctta ctttgataaa ttaaatcat attaaaacaa 480
 atagtcgta aaagaatata attttgaaaa actaaacagt catcaaaca cgcgtgtag 540
 cttttaatat atattatgat atgttaagtg aaaataaagt tgaagtgtat gaagccaaaa 600
 gagaagtcgt tttcacttgt tgagttctaa tttctaggat gggtctatgt aaagtacttc 660
 ctcttccaaa attggaatcc aactcactac ttataaacat catttattcg tcatcttaat 720
 tacaatacca actcttattt ttgtctcadc tatcatcaca ctactaatt aacattacca 780
 ttatcttata tcattttatg aactcattat ttaacaaata aatcacttaa aagtttaact 840
 tcaaaaaaaaa aaaggaagaa agaaagaagg tttgaaatta cactatttgc aattaattat 900
 gttttatgaa aactttctaa tactttaatt ttatgtcgaa tcgtttgtcg aatcgtttct 960
 cttttatcct actacaaaaa tattataaaa tgattataaa tggctaaaat atatagtatg 1020
 tgtatttcat aaatttaaga aaatgttttc gaatacagtc aaatgaacta aaatatttac 1080
 aaaaatataa caaaatttca tatgtatadc gaataaaatt taaaaatttg aagactaaat 1140
 ttgtaataata attacatatt aaagtaattt ttagatgtgt gggattata taataataat 1200
 gttggaagg tgagggcatg aggcagctgg agggataagg actagggatt gttttatadc 1260

ES 2 798 147 T3

ctttttcaca ttttaattttt gatgctaatt aatttggtgc caatcatttc atcacttttt	1320
tttttttttt tggtttctaatt ttattttactt tatatggaaa ataaataaaa gaaaaatgaa	1380
agaaagaaaa aagtgggtttt caaatcaata gaaaaaacia acaactccaa ctttaattggc	1440
ttgaaaaaaa atgcattcta aaattaaacc ttatgattga tttgattttt attccccttt	1500
tttacacttt tcattttcat cataattata tcttcagtta cctgtccacc aattacacca	1560
tcaaagtggg attattggga ttcttttttt tttttttaag attatcttac ggctttcatt	1620
tttttcgtat ctttatgacg gtttgataga cgtaaaagtg gttattgtgt tatagagatt	1680
tgtattattt tgatattatg gaaggattcg tttgagtaaa attataaaaa tcagaggggt	1740
gtcgttttaa aatgtaagta atccaacaca aaaaaataat tatcataaaa tgtaaaaaaa	1800
agggttagat tgaaaacaaa cgaaacaaat gagttttgta ttataaatcg acctaaaatg	1860
ttcaacccaa acatggatta cgatacgacc gattcatctc attacagctc atcgatccta	1920
aaaatgtgaa gagaagtatt ggatataatt attacttaaa aagataatag aaaaaggaaa	1980
tcagcaaaat tagggttctt taataagtta taaaactcat ttatatacaa aattaattac	2040
attacaaaag gtgggaatgt ggatttagac atacaaccta taataattaa ttaaaaaaaa	2100
tacacatggt tcacaatttg agataattaa attttaatcc ccatttgata agtaatgatt	2160
ttatcttata aattagtttg ttaggtctat actttatttg tttatttatt tattcttact	2220
cttttttaat tatattttta cttatatccc aagcttcatt aacgattaat ctaagtttga	2280
aatgattaat taaaaaatag tagtctattt tgatctatca cggactattg tgggtatttt	2340
ataatatttt gttatatttt ataaatattt ttagttcatt ttgctatatt tgaaaataac	2400
catatattat ttatatttta tttttctaga aaatattttc cataaaactca agttctatat	2460
ttaaaatata tattcaaaaag tttcctatta caaccctaag ttgaatactt atagaattgt	2520
aataaaataa gataattaac taaataagtc taattaaaca ctaataattt gaattaacaa	2580
cactaaacaa atattgtcaa caaaacttag ttcaattgac atctatatga agaatcgagt	2640
tccaaatctt cacacctgaa cattaacaaa attatatagt aattatctta attaatctc	2700
ctcatcgata aagtgaatat ctaattaaaa atttaaagtc aaaagtgtga atttcttgaa	2760
atatcaaatt aagacaaaat tcaaatcaat ttgaaaacat ataaacaaaa tggtaaat	2820
gacaaaaaaa aaaaatccta aaaactacat atgaaaaggc tcattaccaa agaagttttt	2880
ccatgaaaaa aaaaaagaaa gaaagagaat aaaatattat atatagttaa taattatgaa	2940
atttttgtat aatcccataa agtttgcaac taaacttaag catatagttt atgacataat	3000
taaggtcact aataatagag aacagttaga gcaaaggcca aacatccact ttattcactc	3060

ES 2 798 147 T3

tctctcaatc atacaaagag atttaattga atctactcat tacaaaatcc ccaatcttat	3120
aataatatta atatcattaa tctcttatat atatatataa tatatataca tatattatct	3180
catgcacatg gattttcatg atcttcaaac cccacgtcgt tgattttcca taaaacctat	3240
atattccact aatcatttat attcattttt ttttttgggt ctaattttta actatatgtt	3300
ttaaaactcc atagtttgat caattcaaaa aaaaaaaaaa aaaaaagtga gttatacaat	3360
ttttaaaatt tttaggacat aatcttgaca agtatcttta tctctcctac atgaaagagg	3420
gagcataaga ttagcttgac attgtctaaa attggaagtg tatatatata tatatatata	3480
tctataaatt tagaaattaa aataatgggg ttttttcatg aaatatatat taatagcttg	3540
attaaggaag gtttagaggg tgattaaagt gcaataatat tgttgattaa ttgttttttt	3600
tttcttatgt gtatcttagt ttcaaggact catgtttttt ttttcttttt tctttttggt	3660
cccatggaag agaacttttt ttcaattata ggatttgggt ttttagtttt tgggaattat	3720
tgaaaagtta taatttctgt tgctaagat gggaataa tgaaaatta tatatgcatg	3780
ggttggtggg gtcataagat ctcaaagaag cttttatttt gtcattattt ttcttttagaa	3840
aatcagaatc ttaatctttt tttttttaca cattggtatt ttggtcccct ctcgccaac	3900
ccaaatttaa aaaagatcaa aaaagaaaaa aaaaaaaaaa agaaacagaa acctaattct	3960
aatcaattt ccactatgca atccttaatt gtcatgttga tataaaaaa aatagtaacg	4020
aggcaggaga ttgaaccata aaacttagct ttgtggttat taatacactt agatgatgct	4080
aattgagtta aactcttgat tgacaattaa aagaaaagt aaatcattag ttaaataatt	4140
aaagtttaat gatcataagt taatatttga tgttgggtat taataaagga gatgcatttg	4200
actaaaaaaaa tgattaggta gagactaggg taattaataa ccaatattaa taaagtatgg	4260
ttatggggga attcatgaca aactcaagag gggatgttca tttgggtctt aatgaagtgt	4320
aggaattcaa ataattttaa aagttattaa taattattat gattttatta ttattatttc	4380
atttgggtct acataagtat aaagaattga ttaaagaggt tgattatgca gaaagaaggg	4440
tgattagaga agtacaatta tgaagggatt ttggataaac acataggaac gaatgatttt	4500
cattgggggc cttaacaaat aatattcaat tttaaaaaaaa ttgactattt gcaattaggt	4560
cttgatcatg aagatcctcg agataaatta tagttttttc tttttttctt cgcataatgaa	4620
ttgttcgat ataacgaatt ttccgacata tcttacgtac actgataaga tattgtctgc	4680
ttaggatcta tacttgtgat ttattctatt atctaataa tgtgagattt tggcttcatt	4740
cctaacaatt ctctgctaatt taattgaaca aaggacgatc actgaggctc cattcaaata	4800
ggaactctta tatctagggt aattactatg ctacattaga acatatcacc tatctgatag	4860
agttcaaaca catatcacac catgagtact actttttgag gctaagctcc actacatctt	4920

ES 2 798 147 T3

tgtttgacac ccaaatactc tatctacacg actaggtttag gagcataaac tttgatacca	4980
tctcttttgag acataaaactc ccgtcacttt atttttcatt tcattgatct aaaacgtctt	5040
ataccaatag agatagttgt tttcacatat atatacttat attatcctat tgcctagtga	5100
atcttttatac aaagcaacat actttaattt tgattaaaca aagagtgatt acacatggag	5160
atcatagcct aattaaataa ttaaagtata attataggga gggattttga gagaaatgta	5220
attcaacaag gattttgcac aagggtctta gataaggaaac taaacaacta gaaaaaaaaa	5280
tataatatat atatatataa aagggaaatg aaatcaaaga aagcatccat tctccatata	5340
tataaaaata catatatata tatggggaag agagaagaga ttacaaaact aatttaataa	5400
taaggtagtt gagggggcaa aaagcaaat acaagagatt ttgatttttg agagaagccc	5460
tttttagcaa aaaaaataaa atagattaat ataacacaca aacacacacc tactcctttt	5520
cttcaaccac cagattcgat tttgctctc tctctctctc tctctctctc tctctctgtg	5580
gatcttaaac cccaattcaa aatatgatga caaattatta attattattc ctccaaaaat	5640
attttcccta ttaaaaaaaaa taccaagaga gagaaaattc aatgattggt ttttctcttt	5700
tacattattt ttctttttaa gaaaaaaaaact tgctataaat agaggtgccc attgtaagag	5760
caacattcaa ttcaacaaat cttcagttca atttctctct ttttggtctc caaaaaggga	5820
aagaaaaaaaa aatcattatt attattattt cattttcttt ctttccctta aatttgagct	5880
gaaggaaaaa aaaaaaaaaa aaatcaatgg cgattgagat tgatattgag caaaatccaa	5940
cggttgaaact ttgcggaatc ggaacatcag aaacacacgg cgaagattcg ccgtattttg	6000
ctggctggaa agcgtatgat gaagatcctt ataatgaatc aacaaatcct tctggtgtta	6060
ttcaaatggg cttagctgaa aatcaagtaa gaatatataa cttttttttg ttttgttttg	6120
ctttgtaagg agattgggtt ttttttttta attgggtttg tgttggaatt tatgaaacag	6180
gtgtcatttg acttattgga ggaatatattg gagggaaaatt gtgagggaga agggaaattat	6240
ttaaattctg ggtttagaga aaatgcttta tttcaagact atcatggtct tttctcattt	6300
agaagtgcaa tgggaagttt tatggaagag attagaggtg gaagagcaaa atttgacca	6360
aatcgagttg ttttaactgc tggtgccact gctgccaatg agcttctcac tttcattctt	6420
gcaaatcctg gcgatgcttt gcttgctccc actccttact atcctgggta agtttatcat	6480
cacctctacg ttttcgtatt tcatttcaaa aaccactctt tactgtaatt actataccct	6540
cagacattaa aattttaact ttcaaactat tcttaaagta tgagtttgag ggtatttcat	6600
atgggggttt taaatgtaaa tttattttaca tttttccact acttaagtgt cctatatttc	6660
tactaatttc ttcttggtgt gtactcatat tttctatcgt ggggtggact acgtattttt	6720

ES 2 798 147 T3

acgagactat tcgtataaca tacgaatgag tgcttttttaa accaaattct tcaaaatcca 6780

agtttaattt tggaaactag aaaatgggta gtttttttaa atgttaccaa acgtgatctt 6840

tatccttaca atcaaacatt accaaggata attgcaacta ccgttagact ttatgagtgc 6900

ttttttttcc aactgttcta tttttttaca acattttgag ttgtattcat catttctgtt 6960

aaagatattt atatgtaact aagtattttt ataagacact gttggtataa tttcatgcac 7020

taataatata gtttcttttt ccagatttga cagagatttg agatggagaa caggagttaa 7080

aattgtacca attcattgtg acagttcaaa caattttcaa ataactcaa aagcattaga 7140

agaagcttat aattcagcaa tggaaatgaa aatcaaagta agaggagttt taatcacaaa 7200

tccatcaaat cactcggag caacgatcca acgtccaca atcgaagaca ttctagattt 7260

cgttacacgc aaaaacatcc acctcgtatc cgacgaaatc tattccggtt ccgttttctc 7320

ctccgccgag ttcacaagcg tcgctgaggt tttggaatcc cgcagctaca aaaacgccga 7380

acgtgtccac atcgtttaca gcctctccaa agatctcggc ctcccggtt ttagaatcgg 7440

cacgatctac tcatacaacg ataaagtcgt cacaaccgct cgcggatgt ctagctttac 7500

gcttatctct tcacaaacgc aacgattttt agcgtccatg ttgtcgaacc ggaagtttac 7560

ggagaaatat attaaaatga accgggacag gctcaagaaa cggtatgaaa tgattattga 7620

agggctgcga accgccggga ttgaatgttt ggaagggaat gccggtttgt tttgttgat 7680

gaatttgagc ccgttggtga aagataaaaa aaccaaagaa ggtgagattg agatatgaa 7740

gaggattttg aaggaagtga aattgaatat ttcccccgt tcgtcgtgtc attgctctga 7800

acccggttgg ttcagggttt gttttgctaa tatgagtga aagactctgc atgttgccct 7860

tgatagaata cgtcggttca tggaaacggat gaagaaggaa aacgaagcta attaaatata 7920

tatctatata taaatatatg aaaagaaaaa aaacatatgt agcttatttt attttatttt 7980

tttttacaat ggttggtgaga aaaaagaaaa aagaaaaaaa aaagaaaaaa aagccattgt 8040

gattcttttg tgtggacact gcccaatatt tgtagaaat ttggggtttt ttgtcttcac 8100

ttatacgtca tattttgatg atttaaaactg aggaaaaaga aaaagaaatc cttgttttct 8160

tgcttttagc aaagcaagtt ttatttctca gttttatata tatatatata taaagtttct 8220

atttgatttg tcatttttat gtgatatgga atataattag tataattcgt tcttgcaatt 8280

aattacctcg aaaataaacg aaatacaaga aaaagaaaaa aaaaatctca tggagtattt 8340

tagggacaag tgtcaactca gggagagaga aaaaaatatg gtttaaattt aatagtattg 8400

gttattttca taacatgctc taaaaaggaa tataactaat aatttgactt taattaagaa 8460

aagaaaagct aataatatat aattaaaatc acttttagca acgaataaca ctttgccgac 8520

ttgtgtaatt aaccaccta ctatccatct gacgtggaat gcaagtaatt aattaattga 8580

ES 2 798 147 T3

ttttttcggtt ttcaaatttt ggtcaacttg attcttggtta ctaatttaat gtttccatct	8640
gtcagaaagc tacaacgttt ttctctcttc tttctttttt ttaagaatta ttttaaaaag	8700
tcaatacggg gctataatta gattttttatt ttctctcttc tttagtgtat atatataatt	8760
atataagtag agattaggaa ctaattgatt gaaaattaaa tatgctgtga cgctcaaaag	8820
atattaatcc cgcgttggtt ttatgtattt aaaaaatgta ttttttcttt tttgatattt	8880
ttaaataata aaatatttta attattttaca aaatataaca aaatttgctc gtttacattt	8940
ttattttgtg aaggacttat gcgatgtggt tcgatctaga attcttgtat tttcaaaata	9000
gatggagctt ctttttggtat gaattctctc taggcttctg aagtcaaaaa ttttcaaccc	9060
aagaaaaaac tagagtttcc ttgtggtatg aggtgtatga aattgactca ttgactcaat	9120
tacatggact tttatcatat ttaactcagc taaattaagt ttattttttg gaattaatct	9180
aagtaataaa tatttaattg aacccaaaata ttttaattga tcagtcataa taaagacatg	9240
tgacatcatt ggaatcagtc aatttgtgtt taaatttaat ttgggataca tgtcaacttt	9300
tagttaatct caaatgcaat ttgtgattag ttacaaaatt tcttattcaa catacttcaa	9360
atctaaaattt ggtaaattat gtttttttta aagaaattag atcaacacaa aaatataata	9420
tgttttgtga aaatgaaaat tttggtttta tgggaggaga caaatttgaa cgacaaattt	9480
tcttagtaac ttacgatatg atcactaact aattttattat aggttggggg tttgaacctc	9540
tctcaacttt gtgctcatta tataatatat ctttaaaaga ccgaccttgc attaatgttg	9600
ttggttagtc tagtggtaga atcgtcattc tctagctctc tctaaattgt tccagcttca	9660
gtttttatat acttttttat attattttta ctgaactata aaaaattact gtcgacaaaa	9720
tttatgcttt tatcacttaa cataataatt gaactatgtt tgctttgttt tttctttttt	9780
aacgtatact atctcaaagt tttggataat gtacgtgttt gaaattttgt aacaaacaag	9840
gatacataaa tacgtaattg ttgttaatta tttcaaaatg taaatagatg atatgatgta	9900
ggggttgcta atattattgt ctaattatth ttgtaaagaa taaaataaaa taaaatcca	9960
tatgatgcct aaggacgtgt ttagtattca atatggcgat tattatgtct ttttttcaa	10020
tggattactt tttggatgat atgatatctt ttattttaat taaaactttt tgatgacttt	10080
taaaatttaa agggcataaa atatagcttt cttttgtaca tatatatggt tgtgcttgga	10140
ttttgtatct gcttgtcttt gtcccgagtt tctcgtcggg ttgaccttcg atctactttt	10200
tttgatatat atgttccaat atcgatttct aagctaacat atgtaaaaga tgattgcact	10260
cgtgtggtgc tgagactatc acacttgata cttgatataa gattgtatta ttcactgaa	10320
ccaataaaaa ttaagatgga tattactcac tcttctcttt taggatcatc aaacaaggct	10380

ES 2 798 147 T3

ctttttttga caatcacctg aagtcacgag taactctaca gtgttatagt tgtttatagt 10440
 atttgagact ggaaatatca aattcagcca attcaattaa atttttataat tgatatacat 10500
 tcatatgctc gaaaagttgg cttccaaccg tccaacgctc taactttggg acatgtgtta 10560
 caaaacacat aggttttaaa aaatacctaa aaacataaaa aatacaactt tgatcatcct 10620
 ttagttcaat ttatttccca atttgatact ttgtgaattcc ctaactagag aattgtaatt 10680
 gtgattgaac gtttttatag tcaaaatttg gatttgatag cttataggac cccatgtgcc 10740
 aaacaaaata aaaattgcat atatatatat agagagagag ggggagtttt atattttaaa 10800
 aaacaaaatt agaaaaaggc aattaatttt gttcttttaa cgacatggtt tctcacgtgt 10860
 taaacgtcat tgttatcaac tgcgtcttgt cgctgaccaa ttcattgaca gcacagcaag 10920
 caaaaaagaa aaaagaaaaa aaaaagtcaa aaagtttaatg tggttaaaga aagcgttttt 10980
 tgtgataact caaaaaaaca aaccaaccaa tgggaagccct ccaggtcact ctcatgtggc 11040
 tcccgctctc acgtcatcaa tgaacacgga cgtgtttaca gctcaacaaa caacaactat 11100
 tcctctgacg tggcaatttc ttattaatga atttccaact ctgccctcct attacatttt 11160
 cttaaggctg gtgaatgccg tacaatggaa gctcctagac atactttcta gttgtgatat 11220
 atatatatat atattattca tccatcatat attaaactcc aatgtatggt tgtggatttt 11280
 acaaaagtta atattatttg gtagatgttg agatttcttt tttttccaat gtctagtctt 11340
 tttccaagtt tggagaaagt tttttatgat gttgggagtt atttaatttc ctagtggggc 11400
 cacgtagtta aataaatata ggttaaattt tacgaaatat ccataatcg cgtgtgtggt 11460
 atgatttcag ttacgtcact attttgaaaa catagttttc gtgttcttat taatgcttat 11520
 agttgtaa atacataatta aaagtatcat ttgttaaaat tgatgtcaca ccgtatgtac 11580
 ataatttatt tattgattga tgttataagg ggcgttgagg atatcgttgg aaaaaaatga 11640
 tttgtaagga tgatcttaat tttctataat tgactcacgt atattatatt gtatacgttt 11700
 ttcaaaattt acacaccaat catctcactt tcgttttcat ttttcatttt agtggaaaac 11760
 aattcaataa aaaaaaattc tgacaacttt ttaaaattta aggcacagtt gaatcaatcc 11820
 aaccgttcaa gatttaaaga agaaaaaac taatttggtt gctccacttt ttgtttttgt 11880
 tcgttttggt ccattaattc taaaaatggt taatttattt gttatacttt caaatcttca 11940
 caactttacc gtattgatcc cttaaaaatg aagtaaaaac aataatgaac gaactaagac 12000
 aatcaccatt tgaaagtta aggaccaaat gaaccaaagt taaaagtata gaaacaaaaa 12060
 taaacatcgc taaataaacc aaataaaact agaattactt aattgaaaca aaataatatg 12120
 aaatggatca aatctttaga ctttagtgta tgggaaagtt ctatgaaaat gaccaccgac 12180
 tatcgagaga ccaatttttg ggccaagtca atgattggta atttcaacct acatttatga 12240

ES 2 798 147 T3

tgatgacaa	tgacaatagc	ttaggtcact	ttgaaaatga	ctataagatt	ttctagttag	12300
agatatacac	ttgatattag	acttggtcgt	tgtaataaaa	actatgtgtc	acggatgata	12360
tatgctaagt	acatgtttta	gtctttaatg	tttgcgata	tttctttacg	taatttaatc	12420
ttcgtaatt	atatttttta	aactatgttt	taatctttta	attcttttgt	tgtgaaattg	12480
acaaataaag	agaaacacga	caatgtagat	ggtaaacaat	gaagtttgtg	tagtttattg	12540
acaatatggt	ggcaatgttt	acgagtagag	agataattgt	tcaaattaca	gaacaatagg	12600
tgacaatacg	tgagtttttg	ttttaattta	cttttgaaac	tttattttga	ttttcaaaac	12660
ttaaagaagt	tgatactatt	attgttttga	gctatgaaga	tgtgtgatcg	aacctttcac	12720
acgttttagaa	tgaagagca	tgtcaattaa	ttttgagcta	aacttgttta	aaaaaattga	12780
ccttttgtct	ttgttttaag	ttttaacaaa	ttaatgatgt	cattgcgtaa	ttttaagtca	12840
gttaggtatg	aaaagccacc	atcgaagaaa	gaaaatttca	agaagaaaag	caatgtagta	12900
aatcacaaat	aattgttttt	ctttcccata	ggttataact	ataaaaaaaaa	aacttctttt	12960
ttagtataat	aacggtaaag	aaggatgatc	aaaccttcta	actcagtcaa	ttgcaaatat	13020
gataaattca	ctttgacaaa	ctaaaataaa	tttgaagatt	tatgaaacaa	aatgtacatt	13080
ttaaaagttt	atattttcac	acaatgttag	cttcctttta	aaaaaaaaatt	aaatttttaa	13140
agttcagaga	acaaaacata	catttcaact	ttgctaactt	caatatagaa	cttatataaa	13200
atcgtgccac	atagggttca	aaagaactat	aggattttaa	aatgaaaaca	tatattttaa	13260
ttgagtttta	gaactaagtt	aatatattta	tttataaaga	ataaacttct	agtaaaatta	13320
agaacaacac	agacatagtt	caataacata	aaactagtac	cttttacatc	aatattagaa	13380

<210> 2

<211> 11137

<212> DNA

5 <213> Cucumis melo

<400> 2

tagtctat	tt	tgatctatca	cgaactattg	taggtat	ttt	ataatat	ttt	gttatat	ttt	60
ataaatat	ttt	ttagttcatt	ttgctatatt	taaaaataac	catatattat	ttatat	ttt	ttat	ttt	120
tttttctaaa	aaatatt	ttc	cataaactca	agttctatat	ttaaaatata	tattcaaaac				180
tttcttatta	caaccctaag	ttgaatactt	atagaattgt	aataaaaataa	gataattaac					240
taaataagtc	taattaaaca	ttaataat	ttt	gaattaacaa	cactaaacaa	atattgtcaa				300
caaaacttag	ttcaattgac	atctatatga	agaatcgact	tccaaatctt	cgcacctgaa					360
cattaacaaa	attatatagt	aattatctta	attaattatc	ctcatcgata	aagtgaatat					420
ctaattaaaa	atttaaagtc	aaaagtgatga	atttcttgaa	atatcaaatt	aagacaaaat					480

ES 2 798 147 T3

tcaaattctct ttagagtaaa attatagaat ttgaaaacat ataaacgaaa aatggtaaat	540
tagacaaaaa aaaaatatat tttttctaaa aactacatat gaaaagggttc attaccaaag	600
aagtttttcc atgaaaaaaa aaagaaagaa agaaagaaag agaataaaat attatatata	660
gttaataatt atgaaatttt tgtataatcc cataaagttt gcaactaaac ttaagcatat	720
agtttatgac ataattaagg tcaactaata tagagaacag ttagagcaaa ggtcaaacat	780
ccactttatt cactctctct caatcataca aagagattta attgaatcta ctcatataca	840
aatccccaat cttataataa tattaatatc attaatctct tatatatata tataatatat	900
atacatatat tatctcatgc acatggattt tcatgatctt caaacccac gtcgttgatt	960
ttccataaaa cctatatatt ccactaatca tttatatcca tttttttttt tgggtctaatt	1020
tttaactat atgtttttaa actccatagt ttgatcaatt caaaaaaaaa aaaaaaaaaa	1080
aaagtgagtt atacaatttt taaaattttt aggacataat cttgacaagt atctttatct	1140
ctcctacatg aaagaggag cataagatta gcttgacatt gtctaaaatt ggaagtgtat	1200
atatatatat atatatatct ataaatttag aaattaaaat aatgggggtt tttcatgaaa	1260
tatatattaa tagcttaatt aaggaagggt tagaggggtga ttaaagtgca ataatttgt	1320
tgattaattg ttttttttct ttatgtgtat cttagtttca aggactcatg tttttttttt	1380
cttttttctt tttgggtcca tggaagagaa ctttttttca attataggat ttgggttttt	1440
agtttttggt aattattgaa aagttataat ttctgttgct aatgatggga aaattatgaa	1500
aaattatata tgcattgggt ggtgggggtca taagatctca aagaagcttt tattttgtca	1560
ttatttttct ttagaaaaac agaactttaa tctttttttt ttacacattg gtattttggt	1620
cccctctcgt ccaacccaaa tttaaaaaag atcaaaaaag aaaaaagaaa aaaaaaaaaa	1680
gaagaagaag aaacctaata ttaaattaat ttccactatg caatccttaa ttgtcatggt	1740
gatataaaaa aaaatagtaa cgaggtagga gattcaacca taaaacttag ctttgtggtt	1800
attaatacac ttagatgatg ctaattgagt taaactcttg attgacaatt aaaagaaaag	1860
ttaaatacatt agttaataa ttaaagttta atgatcataa gttaatatat gatgttggtt	1920
attaataaag gagatgcatt tgactaaaaa aatgattagg tagagactag ggtaattaat	1980
aacaaatatt aataaagtat ggttatgggg gaattcatga caaactcaag aggggatggt	2040
catttggggtc ttaatgaagt gtaggaattc aaataattta aaaagttatt aataattatt	2100
atgattttat tattattatt tcatttggt ctacataagt ataaagaatt gattaaagag	2160
gttgattatg cagaaagaag ggtgattaga gaagtacaat tatgaaggga ttttgataa	2220
acacatagga acgaatgatt ttcattgggg gccttaacaa ataattattca atttttaaaa	2280

ES 2 798 147 T3

aattgactat ttgcaattag gtcttgatca tgaagatcct cgagataaat tatagttttt	2340
tcttgttttc ttcgcatatg aatttgttcg atataacgaa ttttccgaca tatcttacgt	2400
acactgataa gatattgtct gcttaagatc tataactgtg atttattcta ttatctaadc	2460
aatgtgagat tttggtctca ttcctaacaa ttctctgcta attaattgaa caaaggacga	2520
tcactgaggc tccattcaaa taggaactct tatatctagg ttaattacta tgctacatta	2580
gaacatatca cctatctgat agagttcaaa cacatatcac accatgagta ctacttttcg	2640
aggctaagct ccactacatc tttgtttgac acccaaatac tctatctaca cgactagggt	2700
aggagcataa actttgatac catctctttg agacataaac tcccgtcact ttatttttca	2760
tttactgat ctaaaacgtc ttataccaat agagatagtt gttttcacat atatatactt	2820
atattatcct attacctagt gaatctttct gcaaagcaca tactttaatt ttgattaaac	2880
aaaaagtgat tacacatgga tatcatagcc taattaaata attaaagtat aattatgggg	2940
ggggggggat tttgagagaa atgtaattca acaaggatth tgcataaggg tcttagataa	3000
ggaactaaac aactagaaaa aaaatataat atatatatat ataaaaaagg gaaatgaaat	3060
caaagaaagc atccattctc catatatata aaaatacata tatatatatg gggaagagag	3120
aagagattac aaaactaatt taataataag gtagttgagg gggcaaaaag caaaatacaa	3180
gagattttga ttttgagag aagccctttt tagcaaaaa aataaaatag attaatataa	3240
cacacaaaca cacacctact ccttttcttc aaccaccaga ttcgattttg cctctctctc	3300
tctctctctc tctctctctc tctctctgga tcttaaaccc caattcaaaa tatgatgaca	3360
aattattaat tattattcct ccaaaaaat tttccctatt aaaaaaata ccaagagaga	3420
gaaaaattcaa tgattgtttt ttctctttta cattattttt tttttaaaga aaaaaacttg	3480
ctataaatag aggtgcccat tgtaagagca acattcaatt caacaaatct tcagttcaat	3540
ttctctcttt ttggtctctc aaaagggaag gaaaaaaaa tcattattat tattatttca	3600
ttttctttct ttcccttaaa tttgagctga aggaaaaaaa aaaaaaatca atggcgattg	3660
agattgatat tgagcaaaat ccaacggttg aactttcgcg aatcggaaca tcagaaacac	3720
acggcgaaga ttcgccgtat tttgctggct ggaaagcgta tgatgaagat ccttataatg	3780
aatcaacaaa tccttctggt gttattcaaa tgggcttagt tgaaaatcaa gtaagaatat	3840
ataacttttt tttgttttgt tttgctttgt aaggagattg ggggtttttt ttaattgggt	3900
ttgtgttgga atttatgaaa caggtgtcat ttgacttatt ggaggaatat ttggaggaaa	3960
attgtgaggg agaagggaat tttttaaatt ctgggttttag agaaaatgct ttatttcaag	4020
actatcatgg tcttttctca tttagaagtg caatgggaag ttttatggaa gagattagag	4080
gtggaagagc aaaatttgac ccaaatcgag ttgttttaac tgctggtgcc actgctgcca	4140

ES 2 798 147 T3

atgagcttct cactttcatt cttgcaaadc ctggcgatgc tttgcttgtc cccactcctt	4200
actatcctgg gtaagtttat catcacctct acgttttcgt atttcatttc aaaaaccact	4260
ctttactgta attactatac cctcagacat taaaatttta actttcaaac tattcttaaa	4320
gtatgagttt gagggtatth catatggggt ttttaaatgt aaattttattt acattttttcc	4380
actacttaag tgtcctatat ttctactcat ttcttcttgt gttgtactca tattttctat	4440
cgtggggtgg actacgtatt tttacgagac tattcgtata acatacgaat gagtgccttt	4500
taaaccaaht tcttcaaaht ccaagtttaa ttttggaaac tagaaaatgg gtagtttttt	4560
aaaatgttac caaacgtgat ctttatcctt acaatcaaac attatcaagg ataattgcaa	4620
ctatcattag actttatgag tgcttttttt ttccaactgt tctatatattt tacaacattt	4680
tgagttatat tcatcacttc tgttaaagat atttatatgt aactaagtat ttttataaga	4740
cactgttgggt ataatttcat gcactaataa tatagtttct ttttccagat ttgacagaga	4800
tttgagatgg agaacaggag tgaaaattgt accaattcat tgtgacagtt caaacaattt	4860
tcaaataact ccaaaagcat tagaagaagc ttataattca gcaatggaaa tgaaaatcaa	4920
agtaagagga gttttaatca caaatccatc aaatccactc ggagcaacga tccaacgctc	4980
cacaatcgaa gacattctag atttcgttac acgcaaaaac atccacctcg tatccgacga	5040
aatctatttc ggttccgttt tctcctccgc cgagttcaca agcgtcgtcg aggttttgga	5100
atcccgcagc tacaaaaacg ccgaacgtgt ccacatcgth tacagcctct ccaaagatct	5160
cggccttccc gggtttagaa tcggcacgat ctactcatac aacgataaag tcgtcacaac	5220
cgtcgcgagg atgtctagct ttacgcttat ctcttcacaa acgcaacgat ttttagcgtc	5280
catgttgctg aaccggaagt ttacggagaa atatatataa atgaaccggg acaggctcaa	5340
gaaacgggat gaaatgatta ttgaagggtc gcgaaccgct gggattgaat gtttggaagg	5400
gaatgccggt ttgttttgth ggatgaattt gagcccgttg ttgaaagata aaaaaaccaa	5460
agaaggtgag attgagatat ggaagaggat tttgaaggaa gtgaaattga atatttcgcc	5520
cggttcgtcg tgtcattgct ctgaaccggg ttgggttcagg gtttgthttg ctaatatgag	5580
tgaaaagact ctgcatgttg cccttgatag aatacgtcgg ttcattggaac ggatgaagaa	5640
ggaaaacgaa gctaattaaa tatatatata tatatatata aatatatgaa aagaaaaaaa	5700
acatatgtag cttattttat tttatttttt ttttacaatg gttgtgagaa aaaagaaaaa	5760
agaaaaaaga aaaaaaaaaa gaaaaaaaag ccattgtgat tcttttgtht ggacactgcc	5820
caatatthgt tagaaatttg gggthttttg tcttcattta tacgtcatat thtgatgatt	5880
taaactgagg aaaaagaaaa agaaatcctt gthttcttgc thtttagcaaa gcaagthtta	5940

ES 2 798 147 T3

tttctcagtt ttatatatat atataaagtt tctattttgta ttgtcatttt tatgtgatat	6000
ggaatataat tagtataatt cgttcttgca attaattacc tcgaaaataa acgaaataca	6060
agaaaaagaa aaaaaaaatc tcatggagta ttttagggac aagtgtcaac tcagggagag	6120
agaaaaaaat atgggtttaa tttaatagta ttggttattt tcataacatg ctctaaaaag	6180
gaatataact aataatttga ctttaattaa gaaaagaaaa gctaataata tataattaaa	6240
atcactttta gcaacgaata acactttgcc gactttgtga attaaccacc taactatcca	6300
tctgacgtgg aatgcaagta attaattaat tgattttttc gttttcaaat tttggccaac	6360
ttgattcttg gtactaatat aatgtttcca tctgtcagaa agctacaacg tttttcctcc	6420
ttctttcttt tttttaagaa ttattttaaa aagtcaatac ggtgctataa ttagattttt	6480
atttttcttc ttttttagtg tatatatata tttatataag tagagattag gaactaattg	6540
attgaaaatt aaatatgctg tgacgctcaa aagatattaa tcccgcgttg gttttatgta	6600
tttaaaaaat gtattttttc ttttttgata tttttaaata ataaaatatt taaattattt	6660
acaaaatata acaaaatttg ctcgtttaca tttttatttt gtgaaggact tatgcgatgt	6720
ggttcgatct agaattcttg tattttcaaa atagatggag cttctttttg gatgaattct	6780
ctctaggcct ctgaagtcaa aaattttcaa cccaagaaaa aactagagtt tccttgtggt	6840
atgaggtgta tgaaattgac tcattgactc aattacatgg acttttatca tatttaactc	6900
agctaaatta agtttatttt ttggaattaa tctaagtaaa taatatttaa ttgaacccaa	6960
atatttaatt tgatcagtca taataaagac atgtgacatc attggaatca gtcaatttgt	7020
gtttaaattt aatttgggat acatgtcaac ttttagttaa tctcaaagtc aatttgtgat	7080
tagttacaaa atttcttatt caacatactt caaatctaaa tttggtaaat tatgtttttt	7140
ttaaagaaat tagatcaaca caaaaatata atatgttttg tgaaaatgaa aattttggtt	7200
taatgggagg agacaaatth gaacgacaaa ttttcttagt aacttacgat atgatcacta	7260
actaattht tctaggttgg gggtttgaac ctctctcaac tttgtgctca ttatataata	7320
tatctttaaa agaccgacct tgcattaatg ttgttggtta gtctagtggg agaatcgtca	7380
ttctctagct ctctctaaat tgttccagct tcagttttta tatacttttt tatattatth	7440
ttactgaact ataaaaaatt actgtcgaca aaatttatgc ttttatcact taacataata	7500
attgaactat gtttgctttg tttttctttt ttttaacgtat actatctcaa agttttggat	7560
aatgtacgtg tttgaaatth tgtaacaaac aaggatacat aaatacgtaa ttgttggtta	7620
ttattttcaa atgtaaatag atgatatgat gtaggggttg ctaatattat tgtctaatta	7680
tttttgtaaa gaataaaata aaataaaaaat ccatatgatg cctaaggacg tgtttagtat	7740
tcaatatggc gattattatg tctttttttc aaatggatta ctttttggat gatatgatat	7800

ES 2 798 147 T3

cttttatttt aattaaaaact ttttgatggc ttttaaaatt taaagggcat aaaatatagc	7860
tttcttttgt acatatatat ggttgtgctt ggatttttga tctgcctgtc tttgtcccga	7920
gtttctcgtc ggtttgacct ccgatctact tttcttgata tatatgttcc aatatcgatt	7980
tctaagctaa catatgtaag agatgattgc actcgtgtgg tgcgagact atcacacttg	8040
atacttgata taagattgta ttattcatct gaaccaataa aaattaagat ggatattact	8100
cactcttctc ttttaggatc atcaacaat gctctttttt tgacaatcac ctgaagtcac	8160
gagtaactct acagtgttat agttgtttat agtatttgag actagaaata acaaattcag	8220
ccaattcaat taaattttat aattgatata cattcatatg ctcgaaaagt tggcttccaa	8280
ccgtccaacg ccctaacttt gggacatgtg ttacaaaaca cataggttta aaaaaatacc	8340
taaaaacata aaaaaaata caattttgat catccttttag ttcaatttta ttccaattt	8400
gatacttttg aattccctaa ctagagaatt gtaattgtga ttgaacgttt ttatagtcaa	8460
aatttggtt tgatagctta tagaacccca tgtgccaaac aaaataaaaa ttgcatacat	8520
atatatatat atatatatat atatatatat atatatatat atatagaggg	8580
agttttatat tttcaaaaac aaaattagaa aaaggcaatt aattttgttc tttaaacgac	8640
atggtttctc acgtgttaaa cgtcattgtt atcaactgcg tcttgctcgt gaccaattca	8700
ttgacagcac agcaagcaaa aaagaaaaaa aaaaaaaaaa aagtcaaaaa gttaatgtgg	8760
ttaaagaaag cgctttttgt gataactcaa aaaaacaaac caaccaatgg aagccctcca	8820
ggtcactctc atgtggctcc cgtctccacg tcatcaatga acacggacgt gtttacagct	8880
caacaacaaa caaccattcc tctgacgtgg caattttctta ttaatgaatt tccaactctg	8940
ccctcctatt acattttctt aaggtcggtg aatgccgtac aatggaagct cctagacata	9000
ctttctagtt gtgatataata tatatatata tatatattat tcatccatca tatattaaac	9060
tccaatgtat gtttgtggat tttaaaaaag ttaatattat ttggtagatg ttgagatttc	9120
ttttttttcc aatgtctagt ctttttccaa gtttgagaa agttttttat gatgttgga	9180
gttatttaat ttctagtggt ggccacgtag ttaaataaat atagggttaa ttttacgaaa	9240
tatccatata tcgcgtgtgt ggtatgattt cagttacgtc actattttga aaacatagtt	9300
ttcgtgttct tattaatgct tatagtgtga aataacataa ttaaaagtat catttgtaa	9360
aattgatgtc acaccgtatg tacataatth atttattgat tgatgttata aggggcgttg	9420
gagatatcgt tggaaaaaaa tgatttgtaa ggatgatctt aattttctat aattgactca	9480
cgtatattat attgtatacg tttttcaaaa ttacacacc aatcatctca ctttcgtttt	9540
catttttcat tttagtggaa aacaattcaa aaaaaaaaaa aattctgaca acttttttaa	9600

ES 2 798 147 T3

```

atttaaggca cagttgaatc aatccaaccg ttcaagattt aaagaagaaa aaaactaatt 9660
tggttgctcc actttttggt tttgttcggt ttggtccatt aattctaaaa atgtttaatt 9720
tatttgttat actttcaaat cttcacaact ttaccgtatt gatcccttaa aaatgaagta 9780
agtcaatcac catttgaaag ttttaaggacc aaatgaacca aagttaaaaag tataaaaaca 9840
aaaataaaca tcgctaaata aaccaaataa aactagaatt acttaattga aacaaaataa 9900
tatgaaatgg atcaaactct tagacttttag tgtatgggaa agttctatga aaatgaccac 9960
cgactatcga gagaccaatt ttggggccaa gtcaatgatt ggtaatttca acctacattt 10020
atgatgtatg acaatgacaa tagcttaggt cactttgaaa atgactataa gattttctag 10080
ttagagatat acacttgata ttagacttgg tcgttgtaat aaaaactatg tgtcacggat 10140
gatatatgct aagtacatgt tttagtcttt aatgtttgcg tatatttctt tacgtaattt 10200
aatcttcggt aattatattt tttaaactat gttttaatct ttttaattctt ttgttgtgaa 10260
attgatacaa ataaagaggt ttctctttat tgacaatatg ttgcgtagtt tattgacaat 10320
atgttggcaa tgtttacgag tagagagata attgttcaaa ttacagaaca ataggtgaca 10380
atacgtgagt ttttgtttta atttagtttt gaaactttat tttgattttc aaaacttaaa 10440
gaagttgata ctattattgt tttgagctat gaagatgtgt gatcgaacct ttcacacggt 10500
tagaatgaaa gagcatgtca attaatattg agctaaactt gtttaaaaaa attgaccttt 10560
tgtctttggt ttaagtttta acaaattaat gatgtcattg cgtaatttta agtcagttag 10620
gtatgaaaag ccaccatcga agaaagaaaa tttcaagaag aaaagcaatg tagtaaatca 10680
caaataattg tttttctttc ccatagggtta taactataaa aaaaaacttc ttttttagta 10740
taataacggt aaagaaggat gatcaaacct tctaactcag tcaattgcaa atatgataaa 10800
ttcactttga caaactaaaa taaatttgaa gatttatgaa acaaaatgta cattttaaaa 10860
gtttatatatt tcacacaatg ttagcttcct tttaaaaaaa atttaaattt taaaagttca 10920
gagaacaaaa catacatttc aactttgcta acttcaatat agaacttata taaaatcgtg 10980
ccacataggg ttcaaaagaa ctataggatt ttaaaatgaa aacatatatt ttaattgagt 11040
tttagaacta agttaatata tttatttata aagaataaca cttcagtaaa attaagaaca 11100
acacagacat agttcaataa cataaaacta gaggatc 11137

```

<210> 3

<211> 445

<212> PRT

5 <213> Cucumis melo

<400> 3

Met Ala Ile Glu Ile Asp Ile Glu Gln Asn Pro Thr Val Glu Leu Ser

ES 2 798 147 T3

1	5	10	15
Arg Ile Gly Thr Ser Glu Thr His Gly Glu Asp Ser Pro Tyr Phe Ala	20	25	30
Gly Trp Lys Ala Tyr Asp Glu Asp Pro Tyr Asn Glu Ser Thr Asn Pro	35	40	45
Ser Gly Val Ile Gln Met Gly Leu Ala Glu Asn Gln Val Ser Phe Asp	50	55	60
Leu Leu Glu Glu Tyr Leu Glu Glu Asn Cys Glu Gly Glu Gly Asn Tyr	65	70	75
Leu Asn Ser Gly Phe Arg Glu Asn Ala Leu Phe Gln Asp Tyr His Gly	85	90	95
Leu Phe Ser Phe Arg Ser Ala Met Gly Ser Phe Met Glu Glu Ile Arg	100	105	110
Gly Gly Arg Ala Lys Phe Asp Pro Asn Arg Val Val Leu Thr Ala Gly	115	120	125
Ala Thr Ala Ala Asn Glu Leu Leu Thr Phe Ile Leu Ala Asn Pro Gly	130	135	140
Asp Ala Leu Leu Val Pro Thr Pro Tyr Tyr Pro Gly Phe Asp Arg Asp	145	150	155
Leu Arg Trp Arg Thr Gly Val Lys Ile Val Pro Ile His Cys Asp Ser	165	170	175
Ser Asn Asn Phe Gln Ile Thr Pro Lys Ala Leu Glu Glu Ala Tyr Asn	180	185	190
Ser Ala Met Glu Met Lys Ile Lys Val Arg Gly Val Leu Ile Thr Asn	195	200	205
Pro Ser Asn Pro Leu Gly Ala Thr Ile Gln Arg Ser Thr Ile Glu Asp	210	215	220
Ile Leu Asp Phe Val Thr Arg Lys Asn Ile His Leu Val Ser Asp Glu	225	230	235
Ile Tyr Ser Gly Ser Val Phe Ser Ser Ala Glu Phe Thr Ser Val Ala	245	250	255

ES 2 798 147 T3

Glu Val Leu Glu Ser Arg Ser Tyr Lys Asn Ala Glu Arg Val His Ile
260 265 270

Val Tyr Ser Leu Ser Lys Asp Leu Gly Leu Pro Gly Phe Arg Ile Gly
275 280 285

Thr Ile Tyr Ser Tyr Asn Asp Lys Val Val Thr Thr Ala Arg Arg Met
290 295 300

Ser Ser Phe Thr Leu Ile Ser Ser Gln Thr Gln Arg Phe Leu Ala Ser
305 310 315 320

Met Leu Ser Asn Arg Lys Phe Thr Glu Lys Tyr Ile Lys Met Asn Arg
325 330 335

Asp Arg Leu Lys Lys Arg Tyr Glu Met Ile Ile Glu Gly Leu Arg Thr
340 345 350

Ala Gly Ile Glu Cys Leu Glu Gly Asn Ala Gly Leu Phe Cys Trp Met
355 360 365

Asn Leu Ser Pro Leu Leu Lys Asp Lys Lys Thr Lys Glu Gly Glu Ile
370 375 380

Glu Ile Trp Lys Arg Ile Leu Lys Glu Val Lys Leu Asn Ile Ser Pro
385 390 395 400

Gly Ser Ser Cys His Cys Ser Glu Pro Gly Trp Phe Arg Val Cys Phe
405 410 415

Ala Asn Met Ser Glu Lys Thr Leu His Val Ala Leu Asp Arg Ile Arg
420 425 430

Arg Phe Met Glu Arg Met Lys Lys Glu Asn Glu Ala Asn
435 440 445

<210> 4

<211> 19

<212> DNA

5 <213> secuencia artificial

<220>

<223> cebador

<400> 4

gatgagtcct gagtaagta 19

10 <210> 5

<211> 19

<212> DNA

<213> secuencia artificial

<220>

15 <223> cebador

<400> 5

gatgagtcct gagtaatgt 19

<210> 6

<211> 18

20 <212> DNA

<213> secuencia artificial

<220>

<223> sonde

```

<400> 6
gactgcgtac atgcagca      18
<210> 7
<211> 27
5  <212> DNA
   <213> secuencia artificial
   <220>
   <223> sonda
   <400> 7
10 cgtattttgc tggctggaaa gcgtatg      27
   <210> 8
   <211> 27
   <212> DNA
   <213> secuencia artificial
15 <220>
   <223> sonda
   <400> 8
   cgatagaaaa tatgagtaca acacaag      27
   <210> 9
20 <211> 16177
   <212> DNA
   <213> secuencia artificial
   <220>
   <223> Vector pEC2 con inserción del gen ACS
25 <400> 9
   ggaaacagct atgaccatga ttacgccaag ctcggaatta accctcacta aagggaacaa      60
   aagctggagc tccaccgcgg tggccggggc cgctctagcc acagacagct ccgtagccct      120

```


ES 2 798 147 T3

cgttctcctt ggagttcttc gggaaatgga ttttctgatt cccgatgatg tctctcttat 180
 ctgctttgac gacgcccact ggacatccgc tataacgccg ccattgaccg tgatttcgca 240
 acctgtcagg gatctcgcga cggctgccac agaagacctg atcgcccgc taaaggcgca 300
 gacttcagcc ccacccaagg aaactcttct cccggcggtt ctcatagagc gcggttccgt 360
 aagcggttct tcgcaaggtc ggggttgcat accgaactcg cgaaacgtcg gcgactgagc 420
 tcccgaggcg cgttgacaag atgccacgaa gggaatggaa gacagccgat attgcaattg 480
 tcttcgtgga ctgctttcgg gacgtaaggc gcaagccatc atcaccgccg tcctaaacaa 540
 acatacctcc acacaaatth atctacctga ccacaagata tatcctgtca cacgatttat 600
 taaacgtgc acttggttag aactagtgga tccgcggccg catgcctgca ggctgactct 660
 agttgattaa ttgtttaggc tttattatat attcatcata agtctttttt gtagccattt 720
 aggtttgttt tcgtcgaatt aatcttataa acactattht tattcgtaaa ttccgttgct 780
 ttcttattta ctttatatca atgctttaaa acatcaatct agttttttaa aatcaatata 840
 tatgtttgca cacaccatta ttatcgtatg ttactctatc tattactgac aaacgttatg 900
 aaattttatt atatttgtaa ttatcttttg cagttttgtc atttaaaatc gtttttctta 960
 aaagaattat gttgttattt taaaattttg gctaaagaat cacgtggaga attagatata 1020
 tcaaaccttt catctttgag atgaaagatt acatcaatta ctattaacta agcttacttt 1080
 gataaattaa aatcatatta aaacaaatag tccgtaaaag aatataatth tgaaaaacta 1140
 aacagtcac cacaacgcg tgtagcttht taatatatat tatgatatgt taagtgaata 1200
 taaagttgaa gtgtatgaag ccaaaagaga agtcgttttc acttggtgag ttctaatttc 1260
 taggatggtt ctatgtaaag tacttctctt tccaaaattg gaatccaact cactacttat 1320
 aaacatcatt tattcgtcat ctttaattaca ataccaactc ttatthttgt ctcatctatc 1380
 atcacactca ctaattaaca ttaccattat cttatatcat tttatgaact cattatthta 1440
 caaataaatc acttaaaagt ttaacttcaa aaaaaaaaag gaagaaagaa agaaggtttg 1500
 aaattacact atttgcaatt aattatgttt tatgaaaact ttctaatact ttaattttat 1560
 gtcgaatcgt ttgtcgaatc gtttctcttht tatectacta caaaaatatt ataaaatgat 1620
 tataaatggc taaaatatat agtatgtgta tttcataaat ttaagaaat gttttcgaat 1680
 acagtcfaat gaactaaaat atttacaaaa atataacaaa atttcatatg tatatcgaat 1740
 aaaattttaa aatttgaaga ctaaatttgt aatataatta catattaaag taatttttag 1800
 atgtgtgggt attatataat aataatgttg ggaaggtgag ggcattgaggc agctggaggg 1860
 ataaggacta gggattgttt tataatcttht ttcacattta atthttgatg ctaattaatt 1920

ES 2 798 147 T3

tgttgccaat catttcatca cttttttttt tttttttggt tctaatttat ttactttata	1980
tggaaaataa ataaaagaaa aatgaaagaa agaaaaaagt ggtttttcaa tcaatagaaa	2040
aaacaaacaa ctccaacttt aatggcttga aaacaaatgc attctaaaaat taaaccttat	2100
gattgatttg atttttatcc ccttttttta cacttttcat tttcatcata attatatcct	2160
cagttacctg tccaccaatt acaccatcaa atgtggatta ttgggattct tttttttttt	2220
tttaagatta tcttacggct ttcatttttt tcgtatcttt atgacggttt gatagacgta	2280
aaagtgggta ttgtgttata gagatttgta ttattttgat attatggaag gattcgtttg	2340
agtaaaatta taaaaatcag aggggtgtcg tttaaaaatg taagtaatcc aacacaaaaa	2400
aataattatc ataaaatgta aaaaaaaggg ttagattgaa aacaaacgaa acaaatgagt	2460
tttgtattat aaatcgacct aaaatgttca acccaaacat ggattacgat acgaccgatt	2520
catctcatta cagctcatcg atcctaaaaa tgtgaagaga agtattggat ataattatta	2580
cttaaaaaga taatagaaaa aggaaatcag caaaattagg gttctttaat aagttataaa	2640
actcatttat atacaaaatt aattacatta caaaagggtg gaatgtggat ttagacatac	2700
aacctataat aattaattaa aaacaataca catgtttcac aatttgagat aattaaattt	2760
taatcccat ttgataagta atgattttat cttataaatt agtttgtag gtctatactt	2820
tatttgttta ttattttatt cttactcttt tttaattata tttttactta tatcccaagc	2880
ttcatthaacg attaatctaa gtttgaaatg attaattaca aaatagtagt ctattttgat	2940
ctatcacgga ctattgtggg tattttataa tattttgtta tattttataa atatttttag	3000
ttcattttgc tatatttgaa aataaccata tattatttat attttatttt tctagaaaat	3060
attttccata aactcaagtt ctatatttta aatatatatt caaaagtttc ctattacaac	3120
cctaagttga atacctatag aattgtaata aaataagata attaactaaa taagtcta	3180
taaacactaa taatttgaat taacaacact aaacaaatat tgtcaacaaa acttagttca	3240
attgacatct atatgaagaa tcgagttcca aatcttcaca cctgaacatt aacaaaatta	3300
tatagtaatt atcttaatta attctcctca tcgataaagt gaatatctaa ttaaaaattt	3360
aaagtcaaaa gtgtgaattt cttgaaatat caaattaaga caaaattcaa atcaatttga	3420
aaacatataa acaaaatggg aaattagaca aaaaaaaaa atcctaaaaa ctacatatga	3480
aaaggttcat taccaaagaa gtttttccat gaaaaaaaa aagaaagaaa gagaataaaa	3540
tattatatat agttaataat tatgaaattt ttgtataatc ccataaagtt tgcaactaaa	3600
cttaagcata tagtttatga cataattaag gtcactaata atagagaaca gttagagcaa	3660
aggtaaaaca tccactttat tcactctctc tcaatcatac aaagagattt aattgaatct	3720
actcattaca aaatcccaa tcttataata atattaatat cattaatctc ttatatatat	3780

ES 2 798 147 T3

atataatata tatacatata ttatctcatg cacatggatt ttcgatgatct tcaaaccocca	3840
cgtcggtgat tttccataaa acctatatat tccactaatc atttatattc attttttttt	3900
ttgggtctaa ttttaacta tatgttttaa aactccatag tttgatcaat tcaaaaaaaa	3960
aaaaaaaaa aagtgaagta tacaattttt aaaattttta ggacataatc ttgacaagta	4020
tctttatctc tcctacatga aagagggagc ataagattag cttgacattg tctaaaattg	4080
gaagtgtata tatatatata tatatatcta taaattttaga aattaaaata atgggggtttt	4140
ttcatgaaat atatattaat agcttgatta aggaagggtt agagggtgat taaagtgcaa	4200
taatattgtt gattaattgt tttttttttc ttatgtgtat cttagtttca aggactcatg	4260
tttttttttt cttttttctt tttgggtcca tggaagagaa ctttttttca attataggat	4320
ttgggttttt agtttttggg aattattgaa aagttataat ttctgttgct aatgatggga	4380
aaattatgaa aaattatata tgcatgggtt ggtgggggtca taagatctca aagaagcttt	4440
tattttgtca ttatttttct ttagaaaatc agaactctaa tctttttttt tttacacatt	4500
ggtatttttg tccccctctg tccaacccaa atttaaaaaa gatcaaaaaa gaaaaaaaaa	4560
aaaaaaagaa acagaaacct aatcttaaat caatttccac tatgcaatcc ttaattgtca	4620
tgttgatata aaaaaaata gtaacgaggc aggagattga accataaaac ttagctttgt	4680
ggttattaat acacttagat gatgctaatt gagttaaact cttgattgac aattaaaaga	4740
aaagttaaat cattagttaa ataattaaag tttaatgac ataagttaat atttgatgtt	4800
gggtattaat aaaggagatg catttgacta aaaaaatgat taggtagaga ctagggtaat	4860
taataacca aattaataaa gtatggttat gggggaattc atgacaaact caagagggga	4920
tgttcatttg ggtcttaatg aagtgttaga attcaaataa tttaaaaagt tattaataat	4980
tattatgatt ttattattat tatttcattt ggggtctacat aagtataaag aattgattaa	5040
agagggtgat tatgcagaaa gaagggtgat tagagaagta caattatgaa gggatttttg	5100
ataaacacat aggaacgaat gattttcatt gggggcctta acaaataata ttcaatttta	5160
aaaaaattga ctatttgcaa ttaggtcttg atcatgaaga tcctcgagat aaattatagt	5220
tttttctttt tttcttcgca tatgaatttg ttcatataa cgaattttcc gacatatctt	5280
acgtacactg ataagatatt gtctgcttag gatctatact tgtgatttat tctattatct	5340
aatcaatgtg agattttggt ctcatctcta acaattctct gctaattaat tgaacaaagg	5400
acgatcactg aggtccatt caaataggaa ctcttatatc taggttaatt actatgctac	5460
attagaacat atcacctatc tgatagagtt caaacacata tcacaccatg agtactactt	5520
tttgaggcta agctccacta catctttgtt tgacacccaa atactctatc tacacgacta	5580

ES 2 798 147 T3

ggtaggagc ataaactttg ataccatctc tttagagacat aaactccgt cactttattt 5640
 ttcatttcat tgatctaaaa cgtcttatac caatagagat agttgttttc acatatatat 5700
 acttatatta tcctattgcc tagtgaatct ttatacaaag caacatactt taattttgat 5760
 taaacaaaga gtgattacac atggagatca tagcctaatt aaataattaa agtataatta 5820
 tagggaggga ttttgagaga aatgtaattc aacaaggatt ttgcataagg gtcttagata 5880
 aggaactaaa caactagaaa aaaaaatata atatatatat atataaaagg gaaatgaaat 5940
 caaagaaagc atccattctc catatatata aaaatacata tatatatatg gggaagagag 6000
 aagagattac aaaactaatt taataataag gtagttgagg ggcaaaaag caaaatacaa 6060
 gagattttga ttttgagag aagccctttt tagcaaaaaa aataaaatag attaatataa 6120
 cacacaaaca cacacctact ccttttcttc aaccaccaga ttcgattttg cctctctctc 6180
 tctctctctc tctctctctc tctgtggatc ttaaacccca attcaaaata tgatgacaaa 6240
 ttattaatta ttattcctcc aaaaatattt tcctatttaa aaaaaatacc aagagagaga 6300
 aaattcaatg attgtttttt ctcttttaca ttatttttct tttaaagaaa aaaacttgct 6360
 ataaaatagag gtgcccattg taagagcaac attcaattca acaaatcttc agttcaattt 6420
 ctctcttttt ggctctcoaa aagggaaga aaaaaaatc attattatta ttatttcatt 6480
 ttctttcttt cccttaaatt tgagctgaag gaaaaaaaaa aaaaaaaat caatggcgat 6540
 tgagattgat attgagcaaa atccaacggt tgaactttcg cgaatcggaa catcagaaac 6600
 acacggcgaa gattcgccgt attttctggt ctggaagcg tatgatgaag atccttataa 6660
 tgaatcaaca aatccttctg gtgttattca aatgggctta gctgaaaatc aagtaagaat 6720
 atataacttt tttttgtttt gttttgcttt gtaaggagat tgggtttttt tttttaattg 6780
 ggtttgtgtt ggaatttatg aaacaggtgt catttgactt attggaggaa tatttgagg 6840
 aaaattgtga gggagaaggg aattatttaa attctgggt tagagaaaat gctttatttc 6900
 aagactatca tgggtctttc tcatttagaa gtgcaatggg aagttttatg gaagagatta 6960
 gaggtggaag agcaaaattt gacccaaatc gagttgtttt aactgctggt gccactgctg 7020
 ccaatgagct tctcactttc attcttgcaa atcctggcga tgctttgctt gtccccactc 7080
 ctactatcc tgggtaagtt tatcatcacc tctacgtttt cgtatttcat ttcaaaaacc 7140
 actctttact gtaattacta taccctcaga cattaaaatt ttaactttca aactattctt 7200
 aaagtatgag tttagaggta ttcatatgg ggttttttaa tgtaaattta ttacatttt 7260
 tccactactt aagtgtcta ttttctact aatttcttct tgtgtgttac tcatattttc 7320
 tatcgtgggg tggactacgt atttttacga gactattcgt ataacatacg aatgagtget 7380
 ttttaaacca aattcttcaa aatccaagtt taattttgga aactagaaaa tgggtagttt 7440

ES 2 798 147 T3

tttaaaatgt taccaaacgt gatctttatc cttacaatca aacattacca aggataattg	7500
caactaccgt tagactttat gagtgctttt ttttccaact gttctatatt tttaacaacat	7560
tttgagttgt attcatcatt tctgttaaag atattttatat gtaactaagt atttttataa	7620
gacactgttg gtataatttc atgcactaat aatatagttt ctttttccag atttgacaga	7680
gatttgagat ggagaacagg agtgaaaatt gtaccaattc attgtgacag ttcaaacaat	7740
tttcaaataa ctccaaaagc attagaagaa gcttataatt cagcaatgga aatgaaaatc	7800
aaagtaagag gagttttaat cacaaatcca tcaaattcac tcggagcaac gatccaacgc	7860
tccacaatcg aagacattct agatttcgtt acacgcaaaa acatccacct cgtatccgac	7920
gaaatctatt ccggttccgt tttctcctcc gccgagttca caagcgtcgc tgaggttttg	7980
gaatcccgcg gctacaaaaa cgccgaacgt gtccacatcg ttacagcct ctccaaagat	8040
ctcggccttc ccgggttttag aatcggcacg atctactcat acaacgataa agtcgtcaca	8100
accgctcgcc ggatgtctag ctttacgctt atctcttcac aaacgcaacg attttttagcg	8160
tccatgttgt cgaaccggaa gtttacggag aaatatatta aaatgaaccg ggacaggctc	8220
aagaaacggt atgaaatgat tattgaaggg ctgcgaaccg ccgggattga atgtttggaa	8280
gggaatgccg gtttgttttg ttggatgaat ttgagcccg tgttgaaaga taaaaaaacc	8340
aaagaagggt agattgagat atggaagagg attttgaagg aagtgaatt gaatatttcg	8400
cccgttctgt cgtgtcattg ctctgaaccc ggttggttca gggtttgtt tgctaatatg	8460
agtgaaaaga ctctgcatgt tgcccttgat agaatacgtc ggttcatgga acggatgaag	8520
aaggaaaacg aagctaatta aatatatata tatatataaa tatatgaaaa gaaaaaaaaac	8580
atatgtagct tattttattt tatttttttt tacaatggtt gtgagaaaaa agaaaaaaga	8640
aaaaaaaaag aaaaaaaaagc cattgtgatt cttttgtgtg gacactgcc aatatttggt	8700
agaaatttgg ggttttttgt cttcatttat acgtcatatt ttgatgattt aaactgagga	8760
aaaagaaaaa gaaatccttg ttttcttgct tttagcaaag caagttttat ttctcagttt	8820
tatatatata tatatataaa gtttctattt gtattgtcat ttttatgtga tatggaatat	8880
aattagtata attcgttctt gcaattaatt acctcgaaaa taaacgaaat acaagaaaaa	8940
gaaaaaaaaa atctcatgga gtatttttagg gacaagtgtc aactcaggga gagagaaaaa	9000
aatatggttt aaatttaata gtattggtta ttttcataac atgctctaaa aaggaatata	9060
actaataatt tgactttaat taagaaaaga aaagctaata atatataatt aaaatcactt	9120
ttagcaacga ataacacttt gccgacttgt gtaattaacc acctaaactat ccatctgacg	9180
tggaatgcaa gtaattaatt aattgatttt ttcgttttca aattttggtc aacttgattc	9240

ES 2 798 147 T3

ttggtactaa ttttaatgttt ccatctgtca gaaagctaca acgtttttcc tccttctttc	9300
ttttttttaa gaattatttt aaaaagtcaa tacggtgcta taattagatt tttatttttc	9360
ctctttttta gtgtatatat atatttatat aagtagagat taggaactaa ttgattgaaa	9420
attaaatatg ctgtgacgct caaaagatat taatcccgcg ttgggttttat gtatttaaaa	9480
aatgtatttt ttcttttttg atatttttaa ataataaaat atttaaatta tttacaaaat	9540
ataacaaaat ttgctcgttt acatttttat tttgtgaagg acttatgcga tgtgggttcga	9600
tctagaattc ttgtattttc aaaatagatg gagcttcttt ttggatgaat tctctctagg	9660
cttctgaagt caaaaatttt caaccaaga aaaaactaga gtttccttgt ggtatgaggt	9720
gtatgaaatt gactcattga ctcaattaca tggactttta tcatatttaa ctcagctaaa	9780
ttaagtttat tttttggaat taatctaagt aaataatatt taattgaacc aaaatattta	9840
atttgatcag tcataataaa gacatgtgac atcattggaa tcagtcaatt tgtgtttaaa	9900
tttaatttgg gatacatgtc aacttttagt taatctcaaa tgcaatttgt gattagttac	9960
aaaatttctt attcaacata cttcaaatct aaatttggta aattatgttt tttttaaaga	10020
aattagatca acacaaaaat ataatatgtt ttgtgaaaat gaaaatttgg gtttaatggg	10080
aggagacaaa ttggaacgac aaattttctt agtaacttac gatatgatca ctaactaatt	10140
tattataggt tgggggtttg aacctctctc aactttgtgc tcattatata atatatcttt	10200
aaaagaccga ccttgcatta atgttgttgg ttagtctagt ggtagaatcg tcattctcta	10260
gctctctcta aattgttcca gcttcagttt ttatatactt ttttatatta tttttactga	10320
actataaaaa attactgtcg acaaaaattta tgctttttatc acttaacata ataattgaac	10380
tatgtttgct ttgttttttc ttttttaacg tatactatct caaagttttg gataatgtac	10440
gtgtttgaaa ttttgaaca aacaaggata cataaatacg taattgttgt taattatttc	10500
aaaatgtaaa tagatgatat gatgtagggg ttgctaatat tattgtctaa ttatttttgt	10560
aaagaataaa ataaaaataa aatccatatg atgcctaagg acgtgttttag tattcaatat	10620
ggcgattatt atgtcttttt ttcaaatgga ttactttttg gatgatatga tatcttttat	10680
tttaattaaa actttttgat gactttttaa atttaaaggg cataaaatat agctttcttt	10740
tgtacatata tatgggtgtg cttggatttt gtatctgett gtctttgtcc cgagtttctc	10800
gtcggtttga ccttcgatct actttttttg atatatatgt tccaatatcg atttctaagc	10860
taacatatgt aaaagatgat tgcactcgtg tgggtgctgag actatcacac ttgatacttg	10920
atataagatt gtattattca tctgaaccaa taaaaattaa gatggatatt actcactctt	10980
ctcttttagg atcatcaaac aaggctcttt ttttgacaat cacctgaagt cacgagtaac	11040
tctacagtgt tatagttgtt tatagtattt gagactggaa atatcaaatt cagccaattc	11100

ES 2 798 147 T3

aattaaattt tataattgat atacattcat atgctcgaaa agttggcttc caaccgtcca 11160
acgctctaac tttgggacat gtgttacaaa acacataggt ttaaaaaaat acctaaaaac 11220
ataaaaaata caactttgat catccttttag ttcaatttta ttcccaattt gataacttttg 11280
aattccctaa ctagagaatt gtaattgtga ttgaacgttt ttatagtcaa aatttgatt 11340
tgatagctta taggacccca tgtgccaaac aaaataaaaa ttgcatatat atatatagag 11400
agagaggggg agttttatat tttaaaaaac aaaattagaa aaaggcaatt aattttgttc 11460
tttaaacgac atgggtttctc acgtgttaaa cgtcattgtt atcaactgcg tcttgtcgct 11520
gaccaattca ttgacagcac agcaagcaaa aaagaaaaaa gaaaaaaaa agtcaaaaag 11580
ttaatgtggt taaagaaagc gctttttgtg ataactcaa aaaacaaacc aaccaatgga 11640
agccctccag gtcactctca tgtggctccc gtctccacgt catcaatgaa cacggacgtg 11700
tttacagctc aacaaacaac aactattcct ctgacgtggc aatttcttat taatgaattt 11760
ccaactctgc cctcctatta cattttctta aggtcgggtga atgccgtaca atggaagctc 11820
ctagacatac tttctagttg tgatatatat atatatatat tattcatcca tcatatatta 11880
aactccaatg tatgtttgtg gattttacaa aagttaatat tatttggtag atgttgagat 11940
ttcttttttt tocaatgtct agtctttttc caagtttga gaaagttttt tatgatgttg 12000
ggagtatttt aatttcctag tggggccacg tagttaaata aatatagggt aaattttacg 12060
aaatatocat atatcgctg tgtggtatga tttcagttac gtcactattt tgaaaacata 12120
gttttcgtgt tcttattaat gcttatagtt gtaaataaca taattaaaag tatcatttgt 12180
taaaattgat gtcacaccgt atgtacataa tttatttatt gattgatgtt ataaggggcg 12240
ttggagatat cgttggaaaa aaatgatttg taaggatgat cttaattttc tataattgac 12300
tcacgtatat tatattgtat acgtttttca aaattttac accaatcatc tcactttcgt 12360
tttcattttt cattttagtg gaaaacaatt caataaaaaa aaattctgac aacttttta 12420
aatttaaggc acagttgaat caatccaacc gttcaagatt taaagaagaa aaaaactaat 12480
ttggttgctc cactttttgt ttttgttcgt tttgggtccat taattctaaa aatgtttaat 12540
ttatttgtaa tactttcaaa tcttcacaac tttaccgtat tgatccctta aaaatgaagt 12600
aaaaacaata atgaacgaac taagacaatc accatttgaa agtttaagga ccaaatgaac 12660
caaagttaa agtatagaaa caaaaataaa catcgctaaa taaaccaa ataaactagaa 12720
ttacttaatt gaaacaaa ataatgaaat ggatcaaatc tttagacttt agtgtatggg 12780
aaagtctat gaaaatgacc accgactatc gagagaccaa ttttggggcc aagtcaatga 12840
ttggttaatt caacctacat ttatgatgta tgacaatgac aatagcttag gtcactttga 12900

ES 2 798 147 T3

aaatgactat aagatTTTTct agttagagat atacacttga tattagactt ggtcgttgta 12960
 ataaaaacta tgtgtcacgg atgatatatg ctaagtacat gtttttagtct ttaatgtttg 13020
 cgtatatttc tttagcgtaat ttaatcttcg ttaattatat tttttaaact atgttttaaat 13080
 cttttaattc ttttgttgtg aaattgacaa ataaagagaa acacgacaat gtagatggta 13140
 aacaatgaag tttgtgtagt ttattgacaa tatgtttggca atgtttacga gtagagagat 13200
 aattgttcaa attacagaac aatagggtgac aatcgtgag tttttgtttt aatttacttt 13260
 tgaaacttta ttttgatttt caaaacttaa agaagttgat actattattg ttttgagcta 13320
 tgaagatgtg tgatcgaacc ttccacagct ttagaatgaa agagcatgtc aattaatttt 13380
 gagctaaact tgtttaaaaa aattgacctt ttgtctttgt ttttaagtttt aacaaattaa 13440
 tgatgtcatt gcgtaatttt aagtcagtta ggtatgaaaa gccaccatcg aagaaagaaa 13500
 atttcaagaa gaaaagcaat gtagtaaact acaataaatt gtttttcttt cccatagggt 13560
 ataactataa aaaaaaaact tcttttttag tataataacg gtaaagaagg atgatcaaac 13620
 cttctaactc agtcaattgc aaatatgata aattcacttt gacaaactaa aataaatttg 13680
 aagatttatg aaacaaaatg tacattttta aagtttatat ttccacacaa tgttagcttc 13740
 cttttaaaaa aaaattaaat tttaaaagtt cagagaacaa aacatacatt tcaactttgc 13800
 taacttcaat atagaactta tataaaatcg tgccacatag ggttcaaaag aactatagga 13860
 ttttaaaatg aaacatatata ttttaattga gttttagaac taagttaata tattttattta 13920
 taaagaataa cacttcagta aaattaagaa caacacagac atagttcaat aacataaaac 13980
 tagctagagg atccccgggt accatggata tctagaattc gcggccgcaa gcttgatccc 14040
 ccgggctgca ggaattcgat atcaagctag agatctagta acatagatga caccgcgcgc 14100
 gataatttat cctagtttgc gcgctatatt ttgttttcta tcgcgtatta aatgtataat 14160
 tgccgggactc taatcataaa aaccatctc ataaataacg tcatgcatta catgttaatt 14220
 attacatgct taacgtaatt caacagaaat tagatgataa tcatcgcaag accggcaaca 14280
 ggattcaatc ttaagaaact ttattgcaa atgtttgaac gatctgcagg tcgacccatg 14340
 acgcgtgaga tcagatctcg gtgacgggca ggaccggacg gggcgggtacc ggcaggctga 14400
 agtccagctg ccagaaaccc acgtcatgcc agttcccggtg cttgaagccg gccgcccgca 14460
 gcatgccgcg gggggcatat ccgagcgcct cgtgcatgag cagcctcggg tcgttgggca 14520
 gcccgatgac agcgaccacg ctcttgaagc cctgtgcctc cagggacttc agcaggtggg 14580
 tgtagagcgt ggagcccagt cccgtccgct ggtggcgggg ggagacgtac acggtcgact 14640
 cggccgtcca gtgtagggcg ttgctgctc tccaggggac cgcgtaggcg atgccggcga 14700
 cctcgcgcgc cacctcggcg acgagccagg gatagcgcct ccgcagacgg acgaggtcgt 14760

ES 2 798 147 T3

ccgtccactc ctgcgggttc tgccggctcg tacggaagtt gaccgtgctt gtctcgatgt 14820
 agtgggtgac gatgggtgcag accgccggca tgccgcctc ggtggcacgg cggatgtcgg 14880
 ccgggcgtcg ttctgggctc atggatcgac ctgcaggtct gtcctctcca aatgaaatga 14940
 acttccttat atagaggaag ggtcttgcca aggatagtgg gattgtgctt catcccttac 15000
 gtcagtggag atatacacatc aatccacttg ctttgaagac gtgggttgaa cgtcttcttt 15060
 ttccacgatg ctccctcggt gtgggggtcc atctttggga ccactgtcgg cagaggcatc 15120
 ttcaacgatg gcctttcctt tatcgcaatg atggcatttg taggagccac cttccttttc 15180
 cactatcttc acaataaagt gacagatagc tgggcaatgg aatccgagga ggtttccgga 15240
 tattaccctt tgttgaaaag tctcaattgc ctttgggtct tctgagactg tatctttgat 15300
 atttttggag tagacaagcg tgcctgtctc caccatgttg acgcatctct agcttatcga 15360
 taccgtcggc tattggtaat aggacactgg gattcgtctt ggacaacttt ccttctcatc 15420
 taagcgtaga caaccctcaa ctggaaacgg gccggactcc agggcgtgtg ccagggtgcc 15480
 acggaatagt tttggccaga cccttgaaaa tccgattcag tacaatcgat tgcctcatt 15540
 tttacgttgg catatatcct gccaaacagc caacaacgcg cgtgcggtga ataggaaagc 15600
 gtttgagtgt cttgctcata tcgtgacggt tgacagcaca ggttgaccgc ttgatgattc 15660
 gtacgagccg ccaaacattg gctgtcgtaa tgatatacca tgtcagaaca gcaatccgat 15720
 ggggcggaaa gcattatctt aatgcacacg gaaatggcgc gtcggtgggt ggaatacacc 15780
 gacatagagg ccgtaagttc tgcatggtca tcgtcggaag ggtggcagca ggccgacggc 15840
 tgtggcctct tgctctttca gcgtgaaatg cgtgttgaaa gaataatcga agagagcgtc 15900
 cgctcgacac cttcaattat gccgatttga tcgatgaact gatcgagctc tgaaatcgaa 15960
 ggggcttcga taatcgcaat caaatcaaaa gtgccactca cagaatgaag agcgataacg 16020
 gccgtgacct tcccaaggga ggccgtcacc tgtgaaagcg ctttcgtaat ggtgatcaga 16080
 atatgggctc gaaccaagct cgagacctcg agggggggcc cggtagccaa ttcgccctat 16140
 agtgagtcgt attacaattc actggccgct gttttac 16177

<210> 10

<211> 7621

<212> DNA

5 <213> Cucumis melo

<400> 10

ttcttatcct ctctctctct cttgcctttt atagtagtgg ggttgggtta gatttttggc 60
 catggtggaa agtatgaata agaaaagtag ggagtttgag ttattttggt gtttgatatg 120
 aagttggaca aagtgaatat acaatatatt gctatggaga aaaagaattg aggttgtaat 180

ES 2 798 147 T3

gttgaaaaa ggatcttata tcattgttat gattatctag gcccacaata aaataatgga	240
gcatcttgaa agaagaaaag cactttttct tattttttgg ctttttaact ttgctaatta	300
ttttaggaaa aatatgagtc agccaacccc atttcccaa atccaattct ttttaataag	360
taatttctgt aagaggatga ttttaattat agcatttatt ttcttttaaa gaaaaggaaa	420
agtattttcg tcaatcattg actgaattca taatgctata agttgcttta catgatgatg	480
aatttgaata ccaatctaaa attatggttc tctgctttga atatttaagt aatagattag	540
attttaaacc tttttccatg aaatgttatt tactgatgtt actaattgaa tatattttga	600
tcctcacata attcagtaag accaaaaatg ggtgattaga aaatattatg taataaaact	660
aaaccaatta agttgtggaa gacagttcaa tttaaactat ggaaatagac tccacaaata	720
atagttatag gctaataaat aagaaatctt taaagaattt gaaaagtaag aatttaactt	780
attgcctaaa gtcttatcaa accttatctc aaaacttacg tacggaataa cataaatcat	840
ttcactttgg ttggaaagct gatattaaaa ttgggtatgt atgtttattt ttatttttat	900
tattgctatt aatattacta ttattattac tattattatt gttgttggtt ggacctaaat	960
tcaaaaaatac ccctgaatta ataggatatt ttaaaataat tggatgaact agagaagtgt	1020
tatttattat tattattatt atcattttta tttatgttga tttctactgt atataatcta	1080
aaatttggga aaatattaat ttaacttttg aattaaatgt tttatcagca cattaactat	1140
tgcatttcat ttgaaaaaat tgtgtaaatt ttataataat ttaatgaact ttcataaata	1200
aatcaatttt ggcttttagt tataatcgta agaatcgta cgtccatttt gtaaaattga	1260
cttttgaaca agtctacaca tgtatgaaag agaagcgata gtacgactat ttttaaagtt	1320
gatcataatt aatggtctaa aattcattga cttatgaaaa tttatgagtt taattaactc	1380
aaaccataaa tttcatgcgg agaaatgtat aaattgctga actttcaa ataatcagat	1440
aggagtata aatcgtaaag agagtcgtgg atgatattag gtgtcgtttt caactttatt	1500
gttattatta agattaacat gttggtattt atgaaacatg agcactgagg tgtttaggta	1560
gaaatttaaa tgaagaatta aggatggagg cagcaattag aaaagaaaga ttgaaaacac	1620
agagagacag agaagaaata tcgcaattag ttttcacatt aaaactagac attaccaata	1680
aatcataatt aatatcactt atctttttct ttcctaactt ttgtgaatat tcgaatcaat	1740
ttacatacag tatgattaat tttacgggac tatttacatg atcttatgat ttttttttc	1800
ttttaacgct catgagtatt ttagttaact tacattcact tcgactaatc ttcgagaacc	1860
atgtacctga ttctccaacg tttaaacctt aaccttaata aaataattta tatatatata	1920
cagtgtttta tgtgtggaat tgtgtgtatt atggaggagt agggacaatg gtgagcgttg	1980

ES 2 798 147 T3

gcaaattaaa aaaaaaagaa gagtagtgga attaggcgac aaggaaacca agacgtgacc 2040
accaaagcaa atgttggcct ttccacactt ttcatttgat catttccaaa gaactatcaa 2100
aaaaattttc ttatcttctc ttttgcaaa tttggcaaat acctacggaa ttaccattac 2160
ggtctcctaa tacattctcc aatgttagtc acttactttg cccatttctt cccctttttc 2220
tcaactctca tctctttttt tcacacttgc acacttactt ctagtttatg ttctctcctt 2280
ttgcacgtga atttcaatcg acacttctaa tattatgtct ccgatccaat aaacgtgttg 2340
gaatttggaa gttaaaccga attagtgtat catctagtaa gatttgaaat agtatgtata 2400
gcttttcttt ctaaaaaatt ttaagaacga caagtcaaac ctcgttaaaa ccaaaaacgt 2460
ataacaaaga aaaatcatca tttaagactt ggtgacatct cattagggtg aacacttttc 2520
caacatgcat cagcaccctc ctctctcaac ataagaaata agaaaaacaa aacaaaacaa 2580
aattaacaca gcaaaaataaa aaataaagtt acaaaattac aagaacagta gatgaatttg 2640
ttttatctac gtgaagaggg ttatgatgtt tttttaatat atatatatat atagtcttct 2700
tcacactatt caatgagtc tttgttcttt caaatcccaa aaattgtgat gtctctctca 2760
ccacacacac acaccctttg tttccccctc tcttttcttt ccccttctca ttcttttagtc 2820
attatagcaa gtgatcttat tcttggcttt gtcttttatg ttaggagttt ctctttaatt 2880
attttatttt tatttctcca atctctctct atttctccct atattataag ggtgttgttg 2940
taaacagtcc tctcccatca aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaggaaaaa gaaaaaaga 3000
tgggtgatcc taatctctcc atcaataata ataacaatac ttgttttagt ttatcccctt 3060
ttcaacatta ctcttcttct tcttcttctt ctctctcttc ttataactct cattatcatc 3120
atgatcatct cttctcactt tcttactcca atgataataa cagcaatacc ctaaaaaaca 3180
acatgactac ctctcattat aatccttctt ctcttcttca agttcttctt cctcttttga 3240
gtttaagtcc tgcaagagta gaacaagatc atcatcatca tcatcatcaa aatattattg 3300
atcatgatca taatattatt gattatgatc aaaatgatgt tactgttgct ttgcatttag 3360
ggcttccaac tccttccctc tcttctaata ataattctga tttgattttg aggctttctt 3420
caactgagat ctcatagcaa gaagatcaca cccatcaatt gcaagaactt tcatctaata 3480
attctattgc tagtaatagt aatggagtta ataagggtca atattggatt ccaactccta 3540
ctcagattct cattggtcca actcaattct cttgccctct ttgcttcaag actttcaata 3600
gatacaacaa catgcaggta cttttttttt tttcctttca atttttatgt gtttattttg 3660
tcaacttttt actctttttc ttttctttca tgatataatt ttactgaaaa agtggaaaaa 3720
aaattcacga taatttttgt taattttatt ttttagtacc aatatatttg aaccattgat 3780
ttcaaagtcc tttaacacat acaaagtga tttgagctat atatatatat atatatatat 3840

ES 2 798 147 T3

atatatatat atatatatac tctcttctgt ttttttaggg ttttggttgt tctttttata	3900
cgtatatatg gtcgtcaaca cgtacaaatg tcaatgtcaa tgttttcttc ttctacttct	3960
tttttttttt ttttttttga attttttcat gatgatatta tatatttttg gtgcatgggt	4020
taaaattatt gtagtttttg gggattttca aaagatcaga acaaatcttc atctctggtg	4080
tgtgtatttc agaatgtaaa atccctttct ttatgtgatt gaacaacaca cagcagccag	4140
tttgctgtat atttgacaca ttttgaactt cgtgtgttat ttaatcatct ttggcattcg	4200
tgtgaaatga aatctaactc taattttagt taactcaaac acaatacat atatatttaa	4260
aaaaaaaaatc cataacctga gtcagtagtt gcacctgatg aaatttcatt atatatatt	4320
tcttctaatt atatatcat gtttgtaaat ttccaacaag tctaatacaa atttgagat	4380
ttatatctctt ggtatatattg tacttcaaca ctaaaaggaa tccaagttt ttgagaacaa	4440
caaaagcttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt ttttttgaac tctttgcttt	4500
tccaatttct ccctttgacc accataataa ttattgactc aggagggttt gatatcattt	4560
attaagttga aaactcctga atcttttgcc taaaaagaac tgatagagaa atgtgatgat	4620
atatctacaa gaaaaatttg taacaaagta actcaacttc ttcacagat ttgccccctc	4680
attgtgcaac aactttatta taatataaca tgtttaattt caaaccttt actaattcat	4740
acacatgttt tgaaaaaata tcataatttt ttaaattaat taggatcatt atatatgatt	4800
atggatctgt atggaaaacc aagaatgtgg ttgatagtga tcgctcatca tcgtttagg	4860
tgtggtttct tttttaagcg tacttgtaat tttgtcgttc actttctggt gtgtatgttg	4920
cgggtggattc ttttaatcca taggttcaact ttctggtgca tatcgaaaac taactctcat	4980
gtgtcattaa gtatataaat ttctataaaa aatacttaag gatatgaggg ttagtgggtg	5040
tgcctatttg aagattgatt atacccttgt tggatatcct ttggtcctat ggaggattgc	5100
attgtgttgt tgtttcaaaa atgcttttta ttattaaaaa gaattcaaaa ttttaattgaa	5160
aatcataagt ttttatcgtt taaaagaaaa tacctgagaa tacgaagggt ggtcgtaaat	5220
ataaatacga atattctaac taggtagaca cgtacattat tcattagtat actctcatcg	5280
tactttgtca actatagatt agagcattga cctatatctg tgttagcacg tgttcaacat	5340
tgcatgcatt gaaatggtag tctaagcttt ttattgtta cggtttcatt aattttatga	5400
ttaattaact gttgagttat attattatgc tgacatgttt agcattcgga ataacagatg	5460
catatgtggg ggcattgatc acaatacagg aaagggccac aatcactaag aggaacacaa	5520
ccaacagcaa tgttgaggct gccatgttac tgttgtgcaa taggatgcag aaacaacata	5580
gaccatccaa gatcaaagcc attaaaagac ttcagaacac ttcaaacaca ttacaaaaga	5640

ES 2 798 147 T3

aaacatggga tgaagccatt tacatgtaga aaatgtggga aagcttttgc tgtagagga 5700
 gactggagaa cacatgagaa gaattgtggg aaacttttgc attgcacatg tggctctgat 5760
 tttaaagcata aaaggtctct taaagatcat atcaaagcct ttggacttgg ccatgctgct 5820
 tatgggattg atgatcatca taatcatcat cattcttttg ataataga tgatgacca 5880
 gcttctgata ttgaacatg actatcataa tatatataat ataattatga acattattat 5940
 tgatatatcc ccaatgttct ttttttttcc ccccttttta acaaatttca taccttattt 6000
 tagctgtttg tactgttaaa ttggagtgtt tttcaatcat tattgttctt atctttaatg 6060
 agttcatgct agctaattta atatcaagct atatactcaa attaaaattg atattcattg 6120
 ttcattttta ttttatttac atttagattt ggttgataga agttctaata acgtcttttg 6180
 cctatcaaca aaggtctttt cttgactttt tgtgttaaca aagatctaga ccacaatcgt 6240
 ggtagtgatg gagttgagat ataatagagag tgtgaaaaa tatgtcaacc tatttagaat 6300
 atattagtgt gtctactaac cacctatcta tcatatttgc tttctaaaaa tagaattaca 6360
 acttttcatt gaaaccata attttgaact tcttaccata taggtgagga atgtagtta 6420
 ttacttccat ataattacaa aatgccaa caataatatg gtttaaatta tgataggcta 6480
 tatgtgtatc atttaggat aagaaatata attagatgtg taatataatg ctaattaca 6540
 agattgtttg atttgaaatc aaactaattt ggttgaatga ttattgaaa ctatttggtt 6600
 gaataataat ggtttccaaa ttaaaataaa agggcaaagc agcttaagct taattaacac 6660
 gcaactgaaa cgattttaca caacaacaca acccctccat cttaaattct atacttggtg 6720
 agatgtccca tcatgacct catcacgatt caaaattaca cccaaaatgc ttatattcct 6780
 cttgtactta gtatccatta ataaataaat aacatccgta ttatatttat actccataac 6840
 aaaacgtcta attctcatca ttccgtctct tatttgtgtg ccggcgcgtc ctatctatta 6900
 tacctaagat ttaaaagcaa agaataatgta tacgtatata aaataaaata gagcaacaaa 6960
 agaattcaaa aaaacaaaaa gaaagtata aaaagaaca cgaagaggag ttttcaatct 7020
 cacggttgaa catgttaata gaaaaattag ggtttttaat gtatcctaac tcatcgactt 7080
 aatattttag gccaatat caaaataaca tcatttttct tttaatgtaa ttaattatta 7140
 gatgaatgga agattgggaa tatattaaat agaagagagg tttgaaggag tgagatgga 7200
 aaaaaagaag ggtgtgtagg gattttcatt gagatgtcat ctcaaagggg aagaaggggt 7260
 ttttaggtcc agaaagagga ctgttacaat agaaaaaatg gaacagttat agtagttatt 7320
 agggggaaga aaaagggtt tttgaaaaga gtagaaggta ctccaaatga atggctttga 7380
 tttaacacaa cactcaaat aaccaataaa taaataatgc tattgttttc ttttcttctt 7440
 aaatctataa tatatatata tatatatata tatatatata gtctcttaca atttcccagt 7500
 gttctgtctt gcagcactaa taacaatctg tctgccattc agacatgatg gatccatgta 7560
 atttcacctc tttttctttt tcttctctct tttcttttct tttcttttct ttttaagggt 7620

t 7621
 <210> 11
 <211> 1062
 5 <212> DNA
 <213> Cucumis melo
 <400> 11

ES 2 798 147 T3

```

atgggtgac ctaatctctc catcaataat aataacaata cttgttttag tttatccct 60
tttcaacatt actcttcttc ttcttcttct tcttctctct cttataactc tcattatcat 120
catgatcatc tcttctcact ttcttactcc aatgataata acagcaatac cctaaaaaac 180
aacatgacta cctctcatta taatccttct tcttcttctc aagttcttct tcctcttttg 240
agtttaagtc ctgcaagagt agaacaagat catcatcatc atcatcatca aaatattatt 300
gatcatgac ataatattat tgattatgat caaaatgatg ttactgttgc tttgcattta 360
gggcttccaa ctcttctctc ttcttctaata aataattctg atttgatttt gaggctttct 420
tcaactgaga tctcagatca agaagatcac acccatcaat tgcaagaact ttcattctaat 480
aattctattg ctagtaatag taatggagtt aataagggtc aatattggat tccaactcct 540
actcagattc tcattgggtc aactcaattc tcttgccctc tttgcttcaa gactttcaat 600
agatacaaca acatgcagat gcatatgtgg gggcatggat cacaatacag gaaagggcca 660
caatcactaa gaggaacaca accaacagca atgttgaggc tgccatgtta ctgttggtga 720
ataggatgca gaaacaacat agaccatcca agatcaaagc cattaaaaga cttcagaaca 780
cttcaaacac attacaaaag aaaacatggg atgaagccat ttacatgtag aaaatgtggg 840
aaagcttttg ctgttagagg agactggaga acacatgaga agaattgtgg gaaactttgg 900
cattgcacat gtggctctga ttttaagcat aaaaggctc ttaaagatca tatcaaagcc 960
tttggaactg gccatgctgc ttatgggatt gatgatcatc ataatcatca tcattctttt 1020
gataatgaag atgatgaccc agcttctgat attgaaacat ga 1062

```

<210> 12

<211> 353

<212> PRT

5 <213> Cucumis melo

<400> 12

Met Gly Asp Pro Asn Leu Ser Ile Asn Asn Asn Asn Asn Thr Cys Phe

1

5

10

15

ES 2 798 147 T3

Ser Leu Ser Pro Phe Gln His Tyr Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser
 20 25 30

Ser Ser Tyr Asn Ser His Tyr His His Asp His Leu Phe Ser Leu Ser
 35 40 45

Tyr Ser Asn Asp Asn Asn Ser Asn Thr Leu Lys Asn Asn Met Thr Thr
 50 55 60

Ser His Tyr Asn Pro Ser Ser Ser Ser Gln Val Leu Leu Pro Leu Leu
 65 70 75 80

Ser Leu Ser Pro Ala Arg Val Glu Gln Asp His His His His His His
 85 90 95

Gln Asn Ile Ile Asp His Asp His Asn Ile Ile Asp Tyr Asp Gln Asn
 100 105 110

Asp Val Thr Val Ala Leu His Leu Gly Leu Pro Thr Pro Ser Ser Ser
 115 120 125

Ser Asn Asn Asn Ser Asp Leu Ile Leu Arg Leu Ser Ser Thr Glu Ile
 130 135 140

Ser Asp Gln Glu Asp His Thr His Gln Leu Gln Glu Leu Ser Ser Asn
 145 150 155 160

Asn Ser Ile Ala Ser Asn Ser Asn Gly Val Asn Lys Gly Gln Tyr Trp
 165 170 175

Ile Pro Thr Pro Thr Gln Ile Leu Ile Gly Pro Thr Gln Phe Ser Cys
 180 185 190

Pro Leu Cys Phe Lys Thr Phe Asn Arg Tyr Asn Asn Met Gln Met His
 195 200 205

Met Trp Gly His Gly Ser Gln Tyr Arg Lys Gly Pro Gln Ser Leu Arg
 210 215 220

Gly Thr Gln Pro Thr Ala Met Leu Arg Leu Pro Cys Tyr Cys Cys Ala
 225 230 235 240

Ile Gly Cys Arg Asn Asn Ile Asp His Pro Arg Ser Lys Pro Leu Lys
 245 250 255

ES 2 798 147 T3

Asp Phe Arg Thr Leu Gln Thr His Tyr Lys Arg Lys His Gly Met Lys
260 265 270

Pro Phe Thr Cys Arg Lys Cys Gly Lys Ala Phe Ala Val Arg Gly Asp
275 280 285

Trp Arg Thr His Glu Lys Asn Cys Gly Lys Leu Trp His Cys Thr Cys
290 295 300

Gly Ser Asp Phe Lys His Lys Arg Ser Leu Lys Asp His Ile Lys Ala
305 310 315 320

Phe Gly Leu Gly His Ala Ala Tyr Gly Ile Asp Asp His His Asn His
325 330 335

His His Ser Phe Asp Asn Glu Asp Asp Asp Pro Ala Ser Asp Ile Glu
340 345 350

Thr

<210> 13

<211> 2999

<212> DNA

5 <213> Cucumis melo

<400> 13

```

ttcttatcct ctctctctct cttgcctttt atagtagtgg ggttggttta gatttttggc      60
catggtggaa agtatgaata agaaaagtag ggagtttgag ttattttggt gtttgatatg      120
aagttggaca aagtgaatat acaatatatt gctatggaga aaaagaattg aggttgtaat      180
gttggaaaaa ggatcttatt tcattgttat gattatctag gccccaaata aaataatgga      240
gcatcttgaa agaagaaaag cactttttct tattttttgg ctttttaact ttgctaatta      300
ttttaggaaa aatatgagtc agccaacccc atttcccaa atccaattct ttttaataag      360
taattttctgt aagaggatga ttttaattat agcatttatt ttcttttaaa gaaaaggaaa      420
agtattttcg tcaatcattg actgaattca taatgctata agttgcttta catgatgatg      480
aatttgaata ccaatctaaa attatggttc tctgctttga atatttaagt aatagattag      540
attttaaacc tttttccatg aaatgttatt tactgatggt actaattgaa tatattttga      600
tcctcacata attcagtaag accaaaaatg ggtgattaga aatatattat taataaaact      660
aaaccaatta agttgtggaa gacagttcaa tttaaactat ggaaatagac tccacaaata      720
atagttatag gctaataaat aagaaatctt taaagaattt gaaaagtaag aatttaactt      780
attgcctaaa gtcttatcaa accttatctc aaaacttacg tacggaataa cataaatcat      840

```


ES 2 798 147 T3

ttcacttttg	ttggaaagct	gatattaaaa	ttgggtatgt	atgtttat	ttat	900
tattgctatt	aatattacta	ttattattac	tattattatt	gttggtggtt	ggacctaaat	960
tcaaaaatac	cctgaatta	ataggatatt	ttaaaataat	tggatgaactt	agagaagtgt	1020
tatttattat	tattattatt	atcattttta	tttatgttga	tttctactgt	atataatcta	1080
aaatttggga	aaatattaat	ttaaactttg	aattaaatgt	tttatcagca	cattaactat	1140
tgcatttcat	ttgaaaaaat	tgtgtaaatt	ttataataat	ttaatgaact	ttcataaata	1200
aatcaat	ggcttttagt	tataatcgta	agaatcgta	cgccatttt	gtaaaattga	1260
cttttgaaca	agtctacaca	tgtatgaaag	agaagcgata	gtacgactat	ttttaaagtt	1320
gatcataatt	aatgggtctaa	aattcattga	cttatgaaaa	tttatgagtt	taattaactc	1380
aaaccataaa	tttcatgcgg	agaaatgtat	aaattgctga	actttcaaat	aaaatcagat	1440
aggagtata	aatcgtaaag	agagtcgtg	atgatattag	gtgtcgtttt	caactttatt	1500
gttattatta	agattaacat	gttggtat	atgaaacatg	agcactgagg	tgttttaggta	1560
gaaat	tgaagaatta	aggatggagg	cagcaattag	aaaagaaaga	ttgaaaacac	1620
agagagacag	agaagaaata	tcgcaattag	ttttcacatt	aaaactagac	attaccaata	1680
aatcataatt	aatatcactt	atctttttct	ttcctaactt	ttgtgaatat	tcgaatcaat	1740
ttacatacag	tatgattaat	tttacgggac	tatttacatg	atcttatgat	tttttttttc	1800
ttttaacgct	catgagtatt	ttagttaact	tacattcact	tcgactaatc	ttcgagaacc	1860
atgtacctga	ttctccaacg	tttaaaccta	aaccttaata	aaataattta	tatatatata	1920
cagtgtttta	tgtgtggaat	tgtgtgtatt	atggaggagt	agggacaatg	gtgagcggtg	1980
gcaaattaaa	aaaaaaagaa	gagtagtgga	attaggcgac	aaggaaacca	agacgtgacc	2040
accaaagcaa	atgttggcct	tttcacactt	ttcatttgat	catttcctaaa	gaactatcaa	2100
aaaaattttc	ttatcttctc	ttttggcaaa	tttggcaaat	acctacggaa	ttaccattac	2160
ggctctcctaa	tacattctcc	aatgttagtc	acttactttg	cccatttctt	cccctttttc	2220
tcaactctca	tctctttttt	tcacacttgc	acacttactt	ctagtttatg	ttctctcctt	2280
ttgcacgtga	atttcaatcg	acacttctaa	tattatgtct	ccgatccaat	aaacgtgttg	2340
gaatttggaa	gttaaaccga	attagtgtat	catctagtaa	gatttgaaat	agtatgtata	2400
gcttttcttt	ctaaaaaatt	ttaagaacga	caagtcaaac	ctcgttaaaa	ccaaaaacgt	2460
ataacaaaga	aaaatcatca	tttaagactt	ggtgacatct	cattagggtta	aacacttttc	2520
caacatgcat	cacgaccttc	ctcctcaaac	ataagaaata	agaaaaacaa	aacaaaaacaa	2580
aattaacaca	gcaaaataaa	aaataaagtt	acaaaattac	aagaacagta	gatgaatttg	2640
ttttatctac	gtgaagagg	ttatgatgtt	tttttaatat	atatatatat	atagtcttct	2700
tcacactatt	caatgagtca	ttgttctttt	caaatcccaa	aaattgtgat	gtctctctca	2760
ccacacacac	acaccttttg	tttccccctc	tcttttcttt	ccccttctca	ttcttttagtc	2820
attatagcaa	gtgatcttat	tcttggcttt	gtccttttatg	ttaggagttt	ctctttaatt	2880
at	ttttattttt	tatttctcca	atctctctct	atattataag	ggtgttgttg	2940
t	aaacagtcc	tctcccatca	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaggaaaaaa	2999

<210> 14

ES 2 798 147 T3

<211> 8255

<212> DNA

<213> Cucumis melo

<400> 14

attttgagta	ggggtgtaat	tgggtcgggt	cgggtcgggt	cttttttttt	tttttttttt	60
tttttttttt	tttttttttt	tcctccttcc	ttagcaagga	ggagattttc	acaaggggga	120
gaaaatgttc	cggggagtg	atcatttgaa	caatacttga	atagaaatgt	agatcatcat	180
aactttttgt	aagtgcattt	tccttatgtt	agtacatact	catcaagaag	atgttaccat	240
gaaatcaatt	ctatatccat	agttgtcatt	cattttgggtc	cttacttggtc	atcaaaccaa	300
gcataagata	ttttgtttac	aaaaactgca	cataactgct	gtcaattaaa	tattaaccga	360
aaataggaaa	caagaaatga	gaccaaagc	acggatatac	cgcactacac	ttgctacatc	420
aaggctgtct	ttacttatta	caaagtgaag	gattaaaagt	ttcatttcac	agtataactg	480
attaggggaag	ggagctaatt	cagaaaactg	acggtatgtc	tgctaaaatt	tttgaagttc	540
tctaagccat	tggaaagatc	tcctcaacag	atgaacgtaa	tgggtactaca	taaaatctta	600
aattaaactg	ccttcacctt	tatgccacag	atacagctgc	aactacaata	catcagtaaa	660
gccattatc	aactatggga	tgaagtcttg	tgtagcaatt	attctgtagg	aaaacttatt	720
ttataagcta	tgacactaac	agcacaagta	taggcaattc	aagtgccatc	aagaggaaaag	780
agcagacgga	tccaagcaga	atccagagcc	acagtatatgt	gcacgagaaa	gacaggaaaag	840
gcacaaagaa	aatgaaaaa	tactaaaatg	ttatgttcac	actctacttg	taagcatgct	900
gcagggaatc	tatagtattt	atttaatat	caagaatgct	ataacaatag	ctggagacct	960
gcaataaata	agtgtaacct	attagagagg	atggttaaac	aatctaaac	ttctgtcata	1020
tgggaaagga	taacaaatac	aactaattca	aacctatttt	ttcctgacat	gcagtgcacc	1080
agaacccgag	ccttgtctct	cacattgctc	tgaaaatcac	aagcaatata	aggaaagtta	1140
gacttttgga	ataagtgaat	gatagaaagc	taatgacacg	ttcttaacca	aaagtcattt	1200
5 gttcagtgtc	atcttatagt	tcatttgggg	gaatataaag	aaaggccacc	tagaaattca	1260

ES 2 798 147 T3

actgcgtcat caaaaggtaa agtcttatca tattggagac agtgatacgt gaaggagtgc 1320
 ttgtagagat tttggcaagc aggcacagtc tgcaaaaaata gtgtggagaa aaccaaagt 1380
 cagtcattta ttttcagatc acccaatata ttttagaggc aagtgatgat gcatgacttc 1440
 tacaacatcc gagagagata accatgatat gtattctaca atgaaactgc tttttagtat 1500
 aaccatcaac ccaataaaac ttatttttat atctacgaaa gccacaact tgatatcatt 1560
 gcattcaata tagattatac atcataatag attagaaaaa tagttataag cataaaatac 1620
 tcagagtcca aggtaacctg agtctccagg caattcattc tggcatttgc catattacca 1680
 aaaccttaat aggctagtag tacagtccat ttacggcaat tatgtgctgg tgctgttatt 1740
 tgttagtatc agagctttca atttataaat aaaatccata agcaggctaa aagcaagatt 1800
 ccaagatgta acgaagcgt aagcataaat cagaatagta gtcacacctg ggcagcatac 1860
 gtccgttggg atggaatta cattggcctc aaatattcaa gtagtgaact taaggacttt 1920
 gacaattacg aataaagaag cagaacctga caaatgtga tccaggatct gtaaatatac 1980
 ctttgaaata ccatatccct attgcttttg ctctctgtcc ccaactttga acccaattca 2040
 ttctcttggg tattgctaga tttagcagaa acaacatcag ctacttgatt agccaccgga 2100
 gccttgccaa cctgcgccgc attcgctaaa tccatgttgc agatagattg aaagtagaga 2160
 gtataaaaga taacaaagga atttggaaaa cactggggaa cttttacaaa cgcagtgaag 2220
 acaataaaaa ccaaccaat aatcagtaag ttaccggttc aacgaaacca ccatgaaatc 2280
 aactaaaaca aaaaacaaaa caaacaaaca accaataatc tctcagccct tcttttgttt 2340
 cttttatata aagaaggtta accaaggaac ctcatgaaca aagtttaca ttgggaaggt 2400
 atgaattaat gaacatcttc acgagaccac ctgttctgta taacccaaag tgcttccatc 2460
 attgagcttc aggactctaa aaaaacaaga ttcatatatt aataagttaa taattttaaa 2520
 aaaatgtaaa taaagatttg agagtaagga tttaaaccat agagtcatta ttcaaattct 2580
 caaatgcagc ttccatctcc ttctctatgt ttatgaattc tagatcaaaa tgacaaacag 2640
 ttagcttata tgggataatt gaaaatttta aatgcgtact tcaaaaagaa tattaccttc 2700
 atcaatttct tcagccccgt caatttcttc agtcatgtca tccaaagggt tagactgaat 2760
 ccaattctga gcacaaatga gtgcctctgc agtttgagga gttaaagaac ttcgaaaaga 2820
 atctaaccac cgtcctccag tgctaaaggc ggactcagaa ggcacagttg atataggaat 2880
 actgtagatg tccctagcta cttggctaata gatcttaaata cgagaggcat tcaccttcca 2940
 ccaagttagc aaatctaaat attcatcgcc catacaatct atacgagcct catccagata 3000
 acgagtcacc tctgttttag catcatctag acatgttttg ttactttgtt taaatctatc 3060
 atgaacagta gcacgtgcct tgtaagatcc actagatgag atagaaggtta tttcactttg 3120

ES 2 798 147 T3

actttgaaag ccaaatacctt cgataggtgt acatgattgt gtttgtgaat atttttcttt	3180
tgacattctc atataataat catcacacaa tcgacgaaat gcttcttcaa ccttatttgt	3240
ccatatTTTT gcacaatctt cctccaaaaa ttcattaaaa caataattca cataagctag	3300
cttgatatcta gggTcaagaa ctacagaaac atacaataat aaattgggtct tctcacttgt	3360
agttataccc caatacttgt tgaattttgt ctgcatgctt aatgtcattt gactcaataa	3420
tgcattctca tacgatgagt attcacgaat tttttcttgg atcaaacaaa gttcatgaaa	3480
aaatatatTT gaagtcacag acatagatgc agaaaacttc attgttacct ctgaaaaagt	3540
cttttaggaac tttaaaaaca cttttgcatt atcccaatct tcagtagtag gaatatcatc	3600
ctttggcaaa taactagggt catgctctc caatctttca aaagtctttt gacacttaat	3660
tgtcccatcc aacatagtaa aagtagaatt ccatcggtgc ggaacatcca ttgtaagaca	3720
atTTTTgtt gacatcttat cttcttttagc aaaatcttta aatatttgca atctagcagg	3780
agatgacctc acatacttca cagcatttct gattcgaaatg atagacacat gcaaactctt	3840
taaggcatca ctaacaatta aattaagaat atgagcacia catctaattg gaataaattc	3900
accatccaac accaaccat ttctgccttt aaacttttta accaagtagg caatggctac	3960
atcatttgaa ctgcatttat caaccgttac agtaaagagc ctatcaatac cccaaccttc	4020
taagcacttt tcaatggctc tacctatggg atctccttta tgattagcta cttgacaaaa	4080
gttcaaaatt cttttgtgca agttccaatc atcatcaatg aaatgagccg ttataaccat	4140
ataattaata ttttgcacag aagtccacgt atccgttggt aaacaaactc tttggccact	4200
tcgagttaat gcaatttttta actttttttt ctcttctata tacatttgaa aacaatcttt	4260
tgcaacagtt actcttgatg gaatcacaaa ctttggtattt aatgcccgac aaaattgggtg	4320
aaaccttca ctttctacga acttaaatgg caattcatcc aagataacca tcctagcaag	4380
catttttcta caattttctt gagtgaatga tgcagtcac ccaattacttt cagaatctcc	4440
ctctccttca acattatctt ccaatggatt tacatacatc ttacatttct ctaaagtctt	4500
ttttaaatta gtggtaccat ttcttttgga atcacaagca tatgaagccc cacaatgttt	4560
acaagcagcc ctaggatatt taggatcaca tccttctact tttataaaat gttcccatc	4620
cgatgatggg ggtttaaccg gttttctttt tcctaacact ggactagaac aactctgatt	4680
tgaagtctcg tctaccgaga atgaagtcac cctaataatc atcaaacaaa acacataaaa	4740
aaaatatcaa tttttatggc ttattaactt catgcacagc agactcaacg actaaacaac	4800
tccaccctca aaaagatata tggactgaaa taatatTTta aatatcccta aactatgtaa	4860
actaggagaa cctaactgta atttaatttc tttgatgcaa ctaacccaaa ataaatttat	4920

ES 2 798 147 T3

tacacaataa tgcaagatta gtacaatfff ttaggtcgag tttgattaga tgffffcaag	4980
ttcatgaacc tgtttaagtt ttagcaactt aatgtgatcg aagactgttg gtttctatct	5040
tcaagacttt atccatataa ggftaaacat atgacacact cccacccaat caccactaca	5100
tcttccactc atatttgata atffffttta gacaatttga acagaaaaaa attggtagct	5160
gttattttatc atatttgata aacattffff tagataatff gaaccaataa ttgaagcata	5220
atcaagtttg acaaagttcg agagctatca aactagaaaa gagagataga aaactcgaaa	5280
caaaaccatt ttagatagga ttaattagcg aggttactag ttgttaaata ttaaataatc	5340
aaagcctacc ttcgagatcg ggatctcaac tatgtgcaac atcgccaaga cctaagattt	5400
ggaaagacta tttccaaaaa ccaacgtatt agtccttttg agtattcttt cttcacttac	5460
attctttgtc atagaaagat tcatagactt taaaatattt gagaaaggat gtcctaaacc	5520
tctaaaggcc aattaaataa aaattttctaa atataaaact ctaattgata gaacctacaa	5580
ctattgtaca taaaaatgaa caagaccgaa tccacctct agagaacctt atgtttgctg	5640
gaaatgtata tggacttaaa tgtaaagcaa gatgaacata attcaaatta aagggtgcgc	5700
ctaatagatt caaaatccac taatttgctt acttaatcat aaaattcttc taaaaacatg	5760
caagattggg caatttaatt cttagtccat gtactcaaga aagcttaagt tggatacatg	5820
tcaattggaa aattaaggca ttttgcataa aagaaaatta agaaaaaag aggtacattt	5880
gaaactatff agaaaaattg ggctatffff tttttttaaa catcaaattc ttaccaaacg	5940
agtggttagc aattacaatc ctggttgatc ccttctgttt tgcaccacaa gcaagagctt	6000
tgccaactcc accagcacca atgacaacaa cgagctgagc tttaccagct aagcatgaac	6060
cgactgtgga gctgtcgtta tgcaagcctg caatataaga gttgggtata aaccatcttg	6120
gttgaaaata atattttatga agaaacagaa gaaaaaatatg catacaaacc aggtaatcca	6180
acttcaatgg ctgaaatagc accataacaa tctgtgttat agccacataa tttttcatca	6240
gattgtcttc tagttaagaa caaaaagtta acagctccaa ttggctgcaa aagtttaaaa	6300
ctctatcatc caagtattgt ggaaactaag aggtctatat atatctgggg gaaccttttg	6360
ttttaggatt caagacatgt agatagataa agcgtgtaga gccttacaat tttgttgaaa	6420
tatgatgaaa atttgtatat taatagctaa atgtgtttta tgatgtgaac cgtaccatcc	6480
tgatctacgg ctgaatgtag ttttatactg ctatatatct actaataatc catattacta	6540
acttttttat aaaactaatc cctatatatt ttactatcca atcaccgaca tgtttcttct	6600
tggtctgtag gcttatgata ttgatacact gtcagatgaa cagaggtatg ctatcaagga	6660
ccttgetgat ctgggactag ttaagcttca gcaggttttc ggctagcctc tgetgcttta	6720
ttgaatacga cctttgctca aagttttact ttattttaac tttacctttt tctttttctg	6780

ES 2 798 147 T3

ttgttccttt tgttgttgat ttgtccaggg tagaaaagag agttgggttca tacctactaa 6840
 attagccaca aatctttcaa tgagtttggc agattcctct tcaaggaaac aagtgagtgt 6900
 ttctgaatgc aaattatatt tagattggta tatttctatt cagttccatt ttttttatgc 6960
 ttaccaagtt ttttagagggt gtttggctcg cgaagttgga gataagagag tgtttgtgcc 7020
 caagaaaaac atggatccca caaactaaaa aaccacaaaa atttcatgca tcgttaactc 7080
 ttatgatccc catgacttca caactcccta gacatcataa cttcactctt ggccctcaaac 7140
 ccccttagtg ttttgtgtgt ttttgataat tgcttttcca taattatatt ttagttttat 7200
 actgctatat atccgctccg cgatacttct tatgtaaatt ttatttgata gaatcttctt 7260
 tctgcaatta aataattcgg ttgagtgaag tttttttttt ctcttggggg gggggggggt 7320
 taattctcag ttttagaggct ctatgaagtt gcttgcctct cctaattttc tttctgttac 7380
 atgaccaggg atttgttgtt gtggagacaa atttcaggat gtatgcttat tcttcttcca 7440
 aactacattg tgaatatatta cggtagatcg tgaggcagca gaagcaagct ggttatcaaa 7500
 gttagtcaat ctattggcta gattaggcat ttagtaagtg ttgtgaaaat gagtcgatag 7560
 cgtgaagttt gtgcagagga accccaaact gggaatgagt ataaagacaa ttataggcaa 7620
 ttgctgaggc actggacaaa atgagctgta aactaaagac taagcttctc aaacagtctg 7680
 gtatttttca atctacaaac aagaatttca tattatgtac acttaaacca gaaccataa 7740
 acaagaacc agatggcaat aaccccaat aaacagaaaa aaaacccaaa ataatacaag 7800
 ctgtaattta aaaattaaag agatgataat aaggagaaaag ggacagacag aaagataaag 7860
 caatatatgg gtcagtgtgg aacttacagg cgatgacgat ggagtggcga agtgatgaag 7920
 acgaagagat gccgacgcc atgaacacga agagatagat gccgacgctg atgcagacga 7980
 agaggtagat gccgacgcca aacgatggaa caaatgggtt tttgaagagg aggaagacgc 8040
 cagacgaaat gctgaagact gaagaagaat cgaggagagg aaatgaatta tacctaatacg 8100
 ggtattttta acccgacctg acccgaaccg aattaaatcg ggtcgggtcg gtccagtaac 8160
 attgttgta ctaaccgatc caaccacaa cgaaccgaat cgggtcgggt cgggtcatcg 8220
 ggtcgggtcg gtttttttca cccctaattt tgagt 8255

<210> 15
 <211> 15447
 <212> DNA

5 <213> Cucumis melo

<400> 15
 gctcgggtacc cggggatctt atctcattgt tatgattatc taggccccaa ataaaataat 60
 ggagcatctt gaaagaagaa aagcactttt tcttattttt tggcttttta actttgctaa 120

ES 2 798 147 T3

ttatTTTTagg aaaaatatga gtcagccaac cccatttccc aaaatccaat ttttttttaa	180
taagtaattt ctgtaagagg atgatttttaa ttatagcatt tatttttcttt aaaagaaaag	240
gaaaagtatt ttcgtcaatc attgactgaa ttcataatgc tacaagttgc tttacatgat	300
gatgaatttg aataccaatc taaaattatg gttctctgct ttgaatattt aagtaataga	360
ttagattttt aacctttttc catgaaatgt tatttactga tgttactaat tgaatatatt	420
ttgatcctca cataattcag taagacccaa aatgggtgat tagaaaatat tatgtaataa	480
aactaaacca attaagttgt ggaagacagt tcaattttaa ctatggaaat agactccaca	540
aataatagtt ataggctaataaataagaaa tctttaaaga atttgaaaag taagaattta	600
acttattgcc taaagtctta tcaaacctta tctcaaaact tacgtacgga ataacataaa	660
tcattttcact ttggttgga agctgatatt aaaattgggt atgtatgttt atttttattt	720
ttattattgc tattaatatt actattatta ttactattac tattattatt gttgttggtt	780
ggacctaaat tcaaaaatac ccctgaatta ataggatatt ttaaaataat tgggtgaactt	840
agagaagtgt tatttattat tattattatt atcatttttaa tttatgttga tttctactgt	900
atataattta aaatttgga aaatattaat ttaaactttg aattatatgt tttatcagca	960
cattaactat tgcatttcat ttgaaaaaat tgtgtaaatt ttataataat ttaatgaact	1020
ttcataaata aatcaatttt ggcttttagt tataattgta agaatcgta cgtccatttt	1080
gtaaaattga cttttgaaca agtctacaca tgtatgaaag agaagcgata gtacgactat	1140
ttttaaagtt gatcataatt aatggtctaa aattcattga cttatgaaaa ttcattgagtt	1200
taattaactc aaaccataaa tttcatgcgg agaaatgtat aaattgctga acttacaat	1260
aaaatcagat aggagttata aatcgtaaag agagtcgtag atgatattag gtgtcgtttt	1320
caactttatt gttattatta agattaacat gttggtattt atgaaacatg agcactgagg	1380
tgtttaggta gaaattttaa tgaagaatta aggatggagg cagcaattag aaaagaaaga	1440
ttgaaaacac agagagacag agaagaaata tcgcaattag ttttcacatt aaaactagac	1500
attaccaata aatcataatt aatatcactt atctttttct gaattatcga atcaatttac	1560
agtttgataa attttacggg actatttaca tgatcttatg atttttttct tttaacgctc	1620
atgagtattt tagttaactt acattcactt cgactaatct tcgaaaacca tgtacctgat	1680
tctctaacgt ttgaacctaa accttaataa aataatttac atatatatat acagtgtttt	1740
atgtgtggaa ttgtgtgtat tatggaggag tagggacaat ggtgagcgtt ggcaaattaa	1800
aaaaaaagaa gagtagtgga attaggcgac aaggaaacca agacgtgacc accaaagcaa	1860
atgttggcct tttcacactt ttcatttgat catttccaaa gaactatcaa aattcttttt	1920

ES 2 798 147 T3

cttatcttct cttttggcaa atttggaaca tacctacgga attaccatta cggctctcta 1980
 atacattctc caatgttaat cacttacttt gccattttct tccccctttt ctcaactctc 2040
 atctcttttt ttcacacttg cacacttact tctagtttat gttctctcct ttgacacgtg 2100
 aatttcaatc gacacttcta atattatgtc tccgatccaa taaacgtgtt ggaatttgga 2160
 agttaaacgc aattagtgtg tcatctagta agatttgaaa tggtagtgtg agcttttctt 2220
 tctaaaaagt tttaagaacg acaagtcaaa cttcggttaa accaaaaacg tataacaaag 2280
 aaaaatcatc atttaagact tggtagacatc tcattagggt aaacactttt ccaacatgca 2340
 tcacgacctt cctcctcaaa cataagaaat aagaaaaaca aaacaaaaca aaattaacac 2400
 agcaaaataa aaaataaagt tacaaaaatta caagaacagt agatgaattt gttttatcta 2460
 cgtgggaaga ggggttatgat gtttttttaa tatatatata tatagtcttc ttcacactat 2520
 tcaatgagtc atttgttctt tcaaattcca aaaattgtga tgtctctctc accacacaca 2580
 cacacccttt gtttccccct ctcttttctt tccccctctc attcttttagt cattatagca 2640
 agtgatctta ttcttggtct tgtcctttat gttaggagtt tctctttaat tattttattt 2700
 ttatttctcc aatctctctc tatttctccc tatattataa ggggtgtgtt gtaaacagtc 2760
 ctctcccatc aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaagga aaaaagaaaa aagatgggtg 2820
 atcctaactc ctccatcaat aataataaca atacttggtt tagtttatcc ccttttcaac 2880
 attactcttc ttcttcttct tcttctctct cttataactc tcattatcat catgatcatc 2940
 tcttctact ttcttactcc aatgataata acagcaatac cctaaaaaac aacatgacta 3000
 cctctcatta taatccttct tcttcttctc aagttcttct tcctcttttg agtttaagtc 3060
 ctgcaagagt agaacaagat catcatcatc atcatcatca aaatattatt gatcatgatc 3120
 ataattattt tgattatgat caaatgatg ttactgttgc ttgcattta gggcttccaa 3180
 ctcttctctc ttcttctaata aataattctg atttgatttt gaggccttct tcaactgaga 3240
 tctcagatca agaagatcac acccatcaat tgcaagaact tcatcctaata aattctattg 3300
 ctagtaatat taatggagtt aataagggtc aatattggat tccaactcct actcagattc 3360
 tcattggtcc aactcaattc tcttgccctc ttgcttcaa gactttcaat agatacaaca 3420
 acatgcaggt actttttttt ttttctcttc aatttttatg tgtttatttt gtcacttttt 3480
 tactcttttt cttttcttct atgatataat ttactgaaa aagtggaaaa aaaattcacg 3540
 ataattttgg ttaattttatt ttttttagtac caatatattt gaaccattga tttcaaagtc 3600
 ctttaacaca tacaatgtg atttgageta tatatatata tatatatata tactctcttc 3660
 tgttttttta ggggttttgg tgttcttttt atacgtatat atggctgtca acacgtacaa 3720
 atgtcaatgt caatgttttc ttcttctact tttttttttt tttttttttt gaattttttc 3780

ES 2 798 147 T3

atgatgatat tatatatTTTT tggtgcatgg tttaaaatta ttgtagtttt tggggatttt	3840
caaaagatca gaacaaatct tcatctctgg tgtgtgtatt tcagaatgta aaatcccttt	3900
ctttatgtga ttgaacaaca cacagcagcc agtttgctgt atatttgaca cattttgaac	3960
ttcgtgtgtt atttaatcat ctttggcatt cgtgtgaaat gaaatctaac tctaatttta	4020
gtttacatat atattttaaa aaaaaatcca taacctgagt cagtagttgc acctgatgaa	4080
atttcattat atattatttc ttctaattat atattcatgt ttgttaattt ccaacaagtc	4140
taatgcaaat ttggagattt atattcttgg tatatttgta cttcaacact aaaaggaatc	4200
ccaagttttt gagaacaaca aaagcttttt tctttttttt ttcttttttt tttttttttg	4260
aactctttgc ttttccaatt tctccctttg accaccataa taattattga ctcaggaggg	4320
tttgatatca tttattaagt tgaaaactcc tgaatctttt gcctaaaaag aactgataga	4380
gaaatgtgat gatatatcta caagaaaaat ttgtaacaaa gtaactcaac ttcttcatca	4440
gatttgcccc ctcatgtgtc aacaacttta ttataatata acatgtttta tttcaaacc	4500
tttactaatt catacacatg ttttgaaaaa atacataat tttttaaatt aattaggatc	4560
attatatagt attatggatc tgtatggaaa accaagaatg tagttgatag tgatcgctca	4620
tcatcgttta ggggtgtggt tcttttttaa gcgtacttgt aattttgtcg ttcactttct	4680
gggtgtgatg ttgcggtaga ttcttttaat ccataggttc actttctggt gcatatcgaa	4740
aactaactct catgtgtcat taagtatata aatttctata aaaaatactt aaggatatga	4800
gggttagtgg tgttgcctat tggaagattg attataccct tgttggatat cctttggtct	4860
tatggaggat tgcattgtgt tgttgtttca aaaatgcttt ttattattaa aaagaattca	4920
aaatttaatt gaaaatcata agttttaatc gtttaaaaga aaataacctga gaatacgaag	4980
gttggtcgta aatataaata cgaatatctc aactaggtag acacgtacat tattcattag	5040
tatactctca tcgtactttg tcaactatag attagagcat tgacctatat tcgtgttagc	5100
acgtgttcaa cattgcatgc attgaaatgg tagtctaagc ttttttattg ttacggtttc	5160
attaatttta tgattaatta actgttgagt tatattatta tgctgacatg tttagcattc	5220
ggaataacag atgcatatgt gggggcatgg atcacaatac aggaaagggc cacaatcact	5280
aagaggaaca caaccaacag caatgttgag gctgccatgt tactgttgtg caataggatg	5340
cagaaacaac atagaccatc caagatcaaa gccattaaaa gacttcagaa cacttcaaac	5400
acattacaaa agaaaacatg ggatgaagcc atttacatgt agaaaatgtg ggaaagcttt	5460
tgctgttaga ggagactgga gaacacatga gaagaattgt gggaaacttt ggcattgcac	5520
atgtggctct gattttaagc ataaaaggtc tcttaaagat catatcaaag cctttggact	5580

ES 2 798 147 T3

tggccatgct gcttatggga ttgatgatca tcataatcat catcattcctt ttgataatga	5640
agatgatgac ccagcttctg atattgaaac atgactatca taatatatat aatataatta	5700
tgaacattat tattgatata tccccaatgt tctttttttt tccctttttt aacaaatttc	5760
ataccttatt ttagctgttt gtactgttaa atcggagtgt ttttcaatca ttattgttct	5820
tatctttaat gagttcatgc tagttaattt aatatcaagc tatatactca aattaaaatt	5880
gatattcatt gttcattttt attttattca catttagatt tggttgatag aagttctaata	5940
gacgtctttt gcctatcaac aaaggtcttt tcttgacttt ttttgtgtta acaaagatct	6000
agaccacaat cgtggtagtgt atggagtgtga gatataatga gtgtgaaaaa atatgttaac	6060
ctatttagaa tatattagtgt tgtctactaa ccacctatct atcatatttg ctttctaaaa	6120
atagaattgc aacttttcat tgaaacctat aattttgaac ttcttaccat aggtgagaaa	6180
tgtagtttat tacttccata taattacaaa atgccaatat agtaatatgtg tttaaattat	6240
gataggtcat atgtgtatca tttaggtata agaaatacaa ttagatgtgt aatataatgc	6300
ttaattacaa gattgtttga tttgaaatca aactaatttg gttgaatgat tattggaaac	6360
tatttggttg aataataatg gtgtccaaat taaaataaaa gggcaaagca gcttaagctt	6420
aattaacacg caactgaaac gattttacac aacacaaccc ctccatctta aattctatac	6480
ttgttgagat gtcccatcat gacctcatc atgattcaaa attacacca aaatgcttat	6540
attcctcttg tacttagtat ccattaataa ataaataaca tccatattat atttatactc	6600
catatcaaaa cgtctaattc tcatcattcc gtctcttatt cgtgtgcccg cgcgtctat	6660
ctattatacc taagatttaa aagcaaagaa tatgtatacg tatatcaaat aaaatagagc	6720
aacaaaggaa ttcaaaaaaa ccaaagaaa gtgataaaaa gaacaacgaa gaggagtttt	6780
caatctcacg gttgaacatg ttaatagaaa aattagggtt tttaatgtac cctaactcat	6840
cgacttaata ttttaggcca attaatacaa ataacatcat ttttctttta atgtaattaa	6900
ttattagatg aatggaagat tgggaatata ttaaatagaa gagaggtttg aagaagtgag	6960
atggtaaaaa aagaagggtg tgtagggtt ttcattgaga tgtcatctca aaggggaaga	7020
aggggttttt aggtccagaa agaggactgt tacaatagaa aaaatggaac agttatagta	7080
gttattaggg ggaagaaaaa gggatttttg aaaagagtag aagggtactcc aaatgaatgg	7140
ctttgattta acacaacact caaaattagg ggtgaaaaaa accgaccoga cccgatgacc	7200
cgaccogacc cgattcgggtt cggtttgggt tggatcgggt agtaacaaca atgttactgg	7260
accgaaccga cccgatttaa ttcggttcgg gtccgggtcgg gtttaaaata cccgattagg	7320
tataattcat ttctctctct cgattcttct tcagttctca gcatttcgtc tggcgtcttc	7380
ctctcttca aaaaccattt tgttccatcg tttggcgtcg gcattctacct cttcgtctgc	7440

ES 2 798 147 T3

atcagcgctcg gcacatctatct cttcgtgttc atcggcgctcg gcacatctcttc gtcttcatca	7500
cttcgccact ccatcgatcat cgctgtaag ttccacactg acccatatat tgctttatct	7560
ttctgtctgt ccctttctcc ttattatcat ctctttaatt tttaaattac agcttgtatt	7620
atcttggtt ttttttctgt ttatttggg ttattgccat ctgggttctt gtttatgggt	7680
tctggtttaa gtgtacataa tatgaaattc ttgtttgtag attgaaaaat accagactgt	7740
ttgagaagct tagtcttttag ttacagctc attttgtcca gtgcctcagc aattgcctat	7800
aattgtcttt atactcattc ccagtttggg gttcctctgc aaaaacttca cgctatcgac	7860
tcattttcac aacacttact aaatgcctaa tctagccaat agattgacta actttgataa	7920
ccagcttgc tctgctgcct cagatgtac cgtaatatct cacaatgtag ttggaagaa	7980
gaataagcat acatcctgaa atttgtctcc acaacaaca atccctggtc atgtaacaga	8040
aagaaaatta ggaagagcaa gcaacttcat agagcctcta aactgagaat taaaccccc	8100
ccccccaag agaaaaaaaa aacttcactc aaccgaatta tttaattgca gaaagaagat	8160
tctatcaaat aaaatttaca taagaagtat cgcggagcgg atatatagca gtataaaact	8220
aaaaaataat tatggaaaag caattatcaa aaacacacaa aactaaggg gggtttgagg	8280
ccaagagtga agttatgatg tctagggagt tgtgaagtca tggggatcat aagagttaac	8340
gatgcatgaa attttgggtg ttttttagtt tgtgggatcc atgttttctt tgggcacaaa	8400
cactctctta tctccaactt cgcgagccaa acacctcta aaaacttggg aagcataaaa	8460
aaaatggaac tgaatagaaa tataccaatc taaaaataat ttgcattcag aaactcac	8520
ttgtttcctt gaagaggaat ctgccaaact cattgaaaga ttgtggcta atttagtagg	8580
tatgaaccaa ctctcttttc taccctggac aaatcaacaa caaaaggaac aacagaaaaa	8640
gaaaaaggta aagttaaaat aaagtaaaac tttgagcaaa ggtcgtattc aataaagcag	8700
cagaggctag ccgaaaacct gctgaagctt aactagtccc agatcagcaa ggtccttgat	8760
agcatacctc tgttcatctg acagtgtatc aatatcataa gcctacagac caagaagaaa	8820
catgtcgggtg attggatagt aaataatata gggattagtt ttataaaaaa gttagtaata	8880
tggattatta gtagatatat agcagtataa aactacattc agccgtagat caggatggta	8940
cggttcacat cataaaacac atttagctat taatatacaa attttcatca tatttcaaca	9000
aaattgtaag gctctacacg ctttatctat ctacatgtct tgaatcctaa aaaaaagggt	9060
tccccagat atatatagac ctcttagttt ccacaatact tggatgatag agttttaaac	9120
ttttgcagcc aattggagct gttaactttt tgttcttaac tagaagacaa tctgatgaaa	9180
aattatgtgg ctataacaca gattgttatg gtgctatttc agccattgaa gttggattac	9240

ES 2 798 147 T3

ctggtttgta tgcataat tttctgttt cttcataaat attatatttca accaagatgg 9300
 tttataccca actcttatat tgcaggcttg cataacgaca gctccacagt cggttcatgc 9360
 ttagctggta aagctcagct cggtgtgtgc attggtgctg gtggagtggg caaagctctt 9420
 gcttgtgggt caaaacagaa gggatcaacc aggattgtaa ttgctaacca ctcgtttggg 9480
 aagaatttga tgtttaaaaa aaaaaaatag cccaattttt ctaaatagtt tcaaatgtac 9540
 ctcttttttt cttaattttc ttttatgcaa aatgccttaa ttttccaatt gacatgtatc 9600
 caacttaagc tttcttgagt acatggacta agaattaaat tgaccaatct tgcattgttt 9660
 tagaagaatt ttatgattaa gtaagcaaat tagtggtatt tgaatctatt aggtgcacc 9720
 ttttaattga attatgttca tcttgcttta catttaagtc catatacatt tccagcaaac 9780
 ataaggttct ctagagggtg gattcggtct tgttcatttt tatgtacaat agttgtaggt 9840
 tctatcaatt agagttttat atttagaaat ttttatttaa ttggccttta gaggtttagg 9900
 acatcctttc tcaaatat taaagtctat gaatctttct atgacaaaga atgtaagtga 9960
 agaaagaata ctcaaaagga ctaatacgtt gggttttggg aatagtcctt ccaaatctta 10020
 ggtcttggtg atgttgacac tagttgagat ccgatctcg aaggtaggct ttgattat 10080
 aatatttaac aactagtaac ctgctaatt aatcctatct aaaatgggtt tgtttcgagt 10140
 tttctatctc tcttttctag ttgatagct ctggaacttt gtccaacttg attatgctc 10200
 aattattggt tcaaatatc taaaaaatg tttatcaa atgataaata acagctacca 10260
 attttttct gttcaaattg tctaaaaaa attatcaa atgagtggaa gatgtagtgg 10320
 tgattgggtg ggagtgtg atatgtttaa ctttatatgg ataaagtctt gaagatagaa 10380
 accaacagtc ttcgatcaca ttaagttgct aaaacttaaa caggttcatg aacttgaaaa 10440
 catctaata aactcgacct aaaaaatgt actaatcttg cattattgtg taataaattt 10500
 attttgggtt agttgcatca aagaaattaa attacagtt gggtctccta gtttacatag 10560
 tttagggata tttaaaatat ttttcagtc catatatctt tttagggtg gagttgttta 10620
 gtcgttgagt ctgctgtgca tgaagttaat aagccataaa aattgatatt ttttttatgt 10680
 gttttgtttg atgattatta ggatgacttc attctcggtg gacgagactt caaatcagag 10740
 ttgttctagt ccagtgttag gaaaaagaa accggttaa ccaccatcat cggtatggga 10800
 acattttata aaagtagaag gatgtgatcc taaatctct agggctgctt gtaaaccattg 10860
 tggggcttca tatgcttggt attccaaaag aaatggtacc actaatttta aaagacattt 10920
 agagaaatgt aagatgtatg taaatccatt ggaagataat gttgaaggag agggagattc 10980
 tgaaagtaat ttgatgactg catcattcac tcaagaaaat ttagaaaaa tgettgttag 11040
 gatggttctc ttggatgaat tgccatttaa gttcgtagaa agtgaagggt ttcaccaatt 11100

ES 2 798 147 T3

ttgtcgggca ttaaataccaa agtttgtgat tccatcaaga gtaactgttg caaaagattg 11160
 ttttcaaatag tatatgaagg agaaaaaaaaa gttaaaaaat gcattaactc gaagtggcca 11220
 aagagtttgt ttaacaacgg atacgtggac ttctgtgcaa aatattaatt atatggttat 11280
 aacggctcat ttcatatgat atgattggaa cttgcacaaa agaattttga acttttgtca 11340
 agtagctaata cataaaggag ataccatagg tagagccatt gaaaagtgc tagaagggtg 11400
 gggatattgat aggtctcttta ctgtaacggg tgataatgcg agttcaaata atgtagccat 11460
 tgcctacttg gttaaaaagt ttaaaggcag aaatgggttg gtgttggtg gtgaatttat 11520
 tcacattaga tgttgtgctc atattcttaa ttaattgtt agtgatgcct taaaagattt 11580
 gcattgtgct atcattcgaa tcagaaatgc tgtgaagtat gttaggctcat ctctgctag 11640
 attgcaaata tttaaagatt ttgctaaaga agataagatg tcaacaaaaa attgtcttac 11700
 aatggatggt ccgacacgat ggaattctac ttttactatg ttggatggag caattaagtg 11760
 tcaaaagact tttgaaagat tggaggagca tgaccctagt tatttgccaa aggatgatat 11820
 tcctactact gaagattggg ataatagcaa agtggttgta aagttcctaa agactttttc 11880
 agaggtaaca atgaagtttt ctgcatctat gtctgtgact tcaaatatat tttttcatga 11940
 actttgtttg atccaagaaa taattcgtga atactcatcg tatgagaatg cattattgag 12000
 tcaaatgaca ttaagcatgc agacaaaatt caacaagtat tggggataa ctacaagtga 12060
 gaagaccaat ttattattgt atgtttctgt agttcttgac cctagataca agctagctta 12120
 tgtgaattat tgttttaatg aatttttgga ggaagattgt gcaaaaatat ggacaaataa 12180
 ggttgaagaa gcatttcgtc gattgtgtga tgattattat atgagaatgt caaaagaaaa 12240
 atattcacia acacaatcat gtacacctat cgaaggattt ggctttcaaa gtcaaagtga 12300
 aataccttct atctcatcta gtggatctta caaggcacgt gctactgttc atgatagatt 12360
 taaacaaagt aacaaaacat gtctagatga tgctaaaaca gaggtgactc gttatctgga 12420
 tgaggctcgt atagattgta tgggcgatga atatttagat ttgctaactt ggtggaagg 12480
 gaatgcctct cgatttaaga tcattagcca agtagctagg gacatctaca gtattcctat 12540
 atcaactgtg ccttctgagt ccgcctttag cactggagga cgggtgttag attcttttcg 12600
 aagttcttta actcctcaaa ctgcagaggc actcatttgt gtcagaatt ggattcagtc 12660
 taaacctttg gatgacatga ctgaagaaat tgacggggct gaagaaattg atgaaggtaa 12720
 tattcttttt gaagtacgca tttaaaattt tcaattatcc catataagct aactgtttgt 12780
 cattttgatc tagaattcat aaacatagga aaggagatgg aagctgcatt tgagaatttg 12840
 aataatgact ctatgggtta aatccttact ctcaaatctt tatttacatt tttttaaaat 12900

ES 2 798 147 T3

```

tattaactta ttaaataatcg aatcttggtt ttttagagtc ctgaagctca atgatggaag 12960
cactttgggt tatacgaaca aggtggtctc gtgaagatgt tcattaattc ataccttccc 13020
aattgtaaac tttgttcatt aggttccttg gttaaccttc tttatataaa agaaacaaaa 13080
gaagggtcga gagattattg gttgtttgtt tgttttgtt tttgttttag ttgatttcatt 13140
gggtgtttcg ttgaaccggg aacttactga ttattgggtt ggtttttatt gtcttccatg 13200
cgtttgtaaa agttccccag tgttttccaa attcctttgt tatcttttat actctctact 13260
ttcaatctat ctgaaacatg gatttagcga atgcgggcga ggttggcaag gctccggtgg 13320
ctaatacagt agctgatgtt gtttctgcta aatctagcaa taccacagag aatgaattgg 13380
gttcaaagt ggggacagga agcaaaagca atagggatat ggtatttcaa aggtatatatt 13440
acagatcctg gatcacattt tgtcagggtc tgcctcttta ttcgtaattg tcaaagtcct 13500
taagttcact acttgaatat ttgaggccaa tgtaatttcc attccaacgg acgtatgctg 13560
cccagggtgt actactattc tgatttatgc ttacggcttc gttacatctt ggaatcttgc 13620
ttttagcctg cttatggatt ttatttataa attgaaagct ctgatactaa caaataacag 13680
caccagcaca taattgccgt aaatggactg tactactago ctattaaggt ttgggtaata 13740
tggcaaatgc cagaatgaat tgccctggaga ctcaggttac cttggactct gagtatttta 13800
tgcttataac tatttttcta atctattatg atgtataatc tatattgaat gcaatgatat 13860
caagttgttg gctttcgtag atataaaaat aagttttatt gggttgatgg ttatactaaa 13920
aagcagtttc attgtagaat acatatcatg gttatctctc tcggatgttg tagaagtcatt 13980
gcatcatcac ttgcctctaa aatgtattgg gtgatctgaa aataaatgac tgacatttgg 14040
ttttctccac actatttttg cagactgtgc ctgcttgcca aaatctctac aagaactcct 14100
tcacgtatca ctgtctccaa tatgataaga ctttaccttt tgatgacgca gttgaatttc 14160
taggtggcct ttctttatat tctcccaaat gaactataag atgacactga acaaatgact 14220
tttggttaag aacgtgtcat tagctttcta tcattcactt attccaaaag tctaactttc 14280
ctgatattgc ttgtgatttt cagagcaatg tgagagacaa ggctcgggtt ctggtgcact 14340
gcatgtcagg aaaaaatagg tttgaattag ttgtatttgt tatcctttcc catatgacag 14400
aagtttagat ttgtttaacc atctctctc ataggttaca cttatttatt gcaggctctc 14460
agctattgtt atagcattct tgaatattaa ataaatacta tagattccct gcagcatgct 14520
tacaagtaga gtgtgaacat aacattttag tatttttcat ttttctttgt gcctttcctg 14580
tctttctcgt gcacataact gtggctctgg attctgcttg gatccgtctg ctctttctc 14640
ttgatggcac ttgaattgcc tatacttgtg ctgttagtgt catagcttat aagataagtt 14700
ttctacaga ataattgcta cacaagactt catcccatag ttgataatgg gctttactga 14760

```

ES 2 798 147 T3

tgtattgtag ttgcagctgt atctgtggca taaaggtgaa ggcagtttaa ttttaagattt 14820
tatgtagtac cattacgttc atctgttgag gagatctttc caatggctta gagaacttca 14880
aaaatttttag cagacatacc gtcagttttc tgaattagct cccttcccta atcagttata 14940
ctgtgaaatg aaacttttaa tccttcactt tgtaataagt aaagacgacc ttgatgtagc 15000
aagtgtagtg cggatatatcc gtgcttttgg tctcatttct tgtttcctat tttcgggttaa 15060
tatttaattg acagcagtta tgtgcagttt ttgtaaacia aatatcttat gcttggtttg 15120
atgacaagta aggacaaaa tgaatgacaa ctatggatat agaattgatt tcatggtaac 15180
atcttcttga tgagtatgta ctaacatagg gaaaatgcac ttacaaaaag ttatgatgat 15240
ctacatttct attcaagtat tgttcaaatg atgcactccc cggaacattt tctccccctt 15300
gtgaaaatct cctccttgct aaggaaggag gaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 15360
aaaaaaaaaa agacccgacc cgacccgacc caattacacc cctactcaaa ataaccaata 15420
aataaataat gctattgttt tcttttc 15447

<210> 16

<211> 352

<212> PRT

5 <213> Cucumis melo

<400> 16

Met Gly Asp Pro Asn Leu Ser Ile Asn Asn Asn Asn Asn Thr Cys Phe
1 5 10 15

Ser Leu Ser Pro Phe Gln His Tyr Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser Ser
20 25 30

Ser Tyr Asn Ser His Tyr His His Asp His Leu Phe Ser Leu Ser Tyr
35 40 45

Ser Asn Asp Asn Asn Ser Asn Thr Leu Lys Asn Asn Met Thr Thr Ser
50 55 60

His Tyr Asn Pro Ser Ser Ser Ser Gln Val Leu Leu Pro Leu Leu Ser
65 70 75 80

Leu Ser Pro Ala Arg Val Glu Gln Asp His His His His His His Gln
85 90 95

Asn Ile Ile Asp His Asp His Asn Ile Ile Asp Tyr Asp Gln Asn Asp
100 105 110

ES 2 798 147 T3

Val	Thr	Val	Ala	Leu	His	Leu	Gly	Leu	Pro	Thr	Pro	Ser	Ser	Ser	Ser		
		115					120					125					
Asn	Asn	Asn	Ser	Asp	Leu	Ile	Leu	Arg	Leu	Ser	Ser	Thr	Glu	Ile	Ser		
	130					135					140						
Asp	Gln	Glu	Asp	His	Thr	His	Gln	Leu	Gln	Glu	Leu	Ser	Ser	Asn	Asn		
145					150					155					160		
Ser	Ile	Ala	Ser	Asn	Ser	Asn	Gly	Val	Asn	Lys	Gly	Gln	Tyr	Trp	Ile		
				165					170					175			
Pro	Thr	Pro	Thr	Gln	Ile	Leu	Ile	Gly	Pro	Thr	Gln	Phe	Ser	Cys	Pro		
			180					185					190				
Leu	Cys	Phe	Lys	Thr	Phe	Asn	Arg	Tyr	Asn	Asn	Met	Gln	Met	His	Met		
		195					200					205					
Trp	Gly	His	Gly	Ser	Gln	Tyr	Arg	Lys	Gly	Pro	Gln	Ser	Leu	Arg	Gly		
	210					215					220						
Thr	Gln	Pro	Thr	Ala	Met	Leu	Arg	Leu	Pro	Cys	Tyr	Cys	Cys	Ala	Ile		
225					230					235					240		
Gly	Cys	Arg	Asn	Asn	Ile	Asp	His	Pro	Arg	Ser	Lys	Pro	Leu	Lys	Asp		
			245						250					255			
Phe	Arg	Thr	Leu	Gln	Thr	His	Tyr	Lys	Arg	Lys	His	Gly	Met	Lys	Pro		
			260					265					270				
Phe	Thr	Cys	Arg	Lys	Cys	Gly	Lys	Ala	Phe	Ala	Val	Arg	Gly	Asp	Trp		
		275					280					285					
Arg	Thr	His	Glu	Lys	Asn	Cys	Gly	Lys	Leu	Trp	His	Cys	Thr	Cys	Gly		
	290					295					300						
Ser	Asp	Phe	Lys	His	Lys	Arg	Ser	Leu	Lys	Asp	His	Ile	Lys	Ala	Phe		
305					310					315					320		
Gly	Leu	Gly	His	Ala	Ala	Tyr	Gly	Ile	Asp	Asp	His	His	Asn	His	His		
			325						330					335			
His	Ser	Phe	Asp	Asn	Glu	Asp	Asp	Asp	Pro	Ala	Ser	Asp	Ile	Glu	Thr		
			340					345					350				

REIVINDICACIONES

1. Utilización de una combinación de dos elementos genéticos para el control del desarrollo del tipo floral de una planta dicotiledónea, comprendiendo dicha combinación, respectivamente:

a) un primer elemento genético de control (A/a) presente en dicha planta dicotiledónea, en forma de un alelo dominante (A) y un alelo recesivo (a), en el cual:

- el alelo dominante (A) consiste en un ácido nucleico (NA) que permite la expresión de la proteína ACS (aminociclopropano-carboxilato sintasa) de secuencia SEQ ID N° 3

- el alelo recesivo (a) se distingue del alelo dominante en que dicho alelo recesivo (a) es no funcional en dicha planta dicotiledónea, y

b) un segundo elemento genético de control (G/g) presente en dicha planta dicotiledónea, en forma de un alelo dominante (G) y un alelo recesivo (g), en el cual:

- el alelo dominante (G) consiste en un ácido nucleico (NG) que permite la expresión de la proteína CmWIP1 ("*C. melo Zinc Finger Protein*") de secuencia SEQ ID N° 12,

- el alelo recesivo (g) se distingue del alelo dominante en que dicho alelo recesivo (g) es no funcional en dicha planta dicotiledónea,

entendiéndose que al menos el segundo elemento genético de control ha sido artificialmente introducido en dicha planta dicotiledónea.

2. Utilización de una combinación de dos elementos genéticos según la reivindicación 1, caracterizada porque:

- el alelo dominante (A) consiste en un ácido nucleico (NA) que comprende:

(i) un polinucleótido regulador (PA) funcional en una planta dicotiledónea, y

(ii) un ácido nucleico cuya expresión es regulada por el polinucleótido regulador (PA), codificando dicho ácido nucleico la proteína ACS (aminociclopropano-carboxilato sintasa) de secuencia SEQ ID N° 3,

- el alelo recesivo (a) no funcional se distingue del alelo dominante por un ácido nucleico no funcional y comprende:

(i) un polinucleótido regulador (Pa) cuya secuencia de nucleótidos comprende una inserción, una sustitución o una delección con respecto al ácido nucleico que va desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 5907 de la secuencia SEQ ID N° 1 y que conduce a una expresión reducida o nula de la proteína ACS de secuencia SEQ ID N° 3,

(ii) un ácido nucleico (Na) que codifica una proteína que difiere de la proteína ACS de secuencia SEQ ID N° 3 por la sustitución, la inserción o la delección de uno o varios aminoácidos y que no posee la actividad biológica de dicha proteína ACS en dicha planta dicotiledónea, y

- el alelo dominante (G) consiste en un ácido nucleico (NG) que comprende:

(i) un polinucleótido regulador (PG) funcional en una planta dicotiledónea y

(ii) un ácido nucleico cuya expresión está regulada por el polinucleótido regulador (PG), en que dicho ácido nucleico codifica la proteína CmWIP1 ("*C. melo Zinc Finger Protein*") de secuencia SEQ ID N° 12,

el alelo recesivo no funcional (g) se distingue del alelo dominante (G) por un ácido nucleico no funcional y comprende:

(i) un polinucleótido regulador (Pg) cuya secuencia de nucleótidos comprende al menos una mutación, una inserción o una delección con respecto al ácido nucleico de secuencia SEQ ID N° 13 conduciendo dicho ácido nucleico a una expresión reducida o nula de la proteína CmWIP1 de secuencia SEQ ID N° 12, o

(ii) un ácido nucleico (Ng) que codifica una proteína que difiere de la proteína CmWIP1 de secuencia SEQ ID N° 12 por la sustitución, la inserción o la delección de uno o varios aminoácidos y que no posee la actividad biológica de dicha proteína CmWIP1 en dicha planta dicotiledónea.

3. Utilización de una combinación de dos elementos genéticos según una de las reivindicaciones 1 y 2, caracterizada porque el ácido nucleico que codifica la proteína CmWIP1 comprende, desde el extremo 5' hacia el extremo 3', al menos:

(i) una secuencia que tiene al menos un 95% de identidad con el polinucleótido que va desde el nucleótido 3000 hasta el nucleótido 3617 de la SEQ ID N° 10, y

5 (ii) una secuencia que tiene al menos un 95% de identidad con el polinucleótido que va desde el nucleótido 5458 hasta el nucleótido 5901 de la SEQ ID N° 10.

4. Utilización de una combinación de dos elementos genéticos según una de las reivindicaciones 2 y 3, caracterizada porque el polinucleótido regulador (PG) comprende la secuencia de nucleótidos SEQ ID N° 11.

10

5. Ácido nucleico que comprende, desde el extremo 5' hacia el extremo 3', al menos:

(i) una secuencia que tiene al menos un 98,5% de identidad con el polinucleótido que va desde el nucleótido 3000 hasta el nucleótido 3617 de la secuencia SEQ ID N° 10, y

15

(ii) una secuencia que tiene al menos un 99,5% de identidad con el polinucleótido que va desde el nucleótido 5458 hasta el nucleótido 5901 de la secuencia SEQ ID N° 10.

6. Ácido nucleico en forma de alelo (G) como se define en la reivindicación 5, de secuencia SEQ ID N° 10.

20

7. Ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que va desde el nucleótido 3000 hasta el nucleótido 5901 de la secuencia SEQ ID N° 10.

8. Ácido nucleico, que comprende una secuencia de nucleótidos que porta al menos una alteración escogida entre una mutación, una inserción o una delección, con respecto al ácido nucleico que va desde el nucleótido 1, hasta el nucleótido 2999 de la secuencia SEQ ID N° 10, conduciendo dicho ácido nucleico alterado a una expresión alterada de la proteína CmWIP1 de la secuencia SEQ ID N° 12, cuando controla la expresión de dicha proteína, con respecto a la expresión de la proteína CmWIP1 controlada por el ácido nucleico que va desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 2999 de la secuencia SEQ ID N° 10.

25

30

9. Vector recombinante que comprende un ácido nucleico, destinado a ser artificialmente introducido en una planta dicotiledónea, en que el ácido nucleico se escoge entre:

a) un elemento genético de control (G/g),

35

en que el elemento genético de control (G/g) se presenta en forma de un alelo dominante (G) o de un alelo recesivo (g):

- consistiendo el alelo dominante (G) en un ácido nucleico (NG), comprende:

40

(i) un polinucleótido regulador (PG) funcional en una planta dicotiledónea, y

(ii) un ácido nucleico cuya expresión está regulada por el polinucleótido regulador (PG), codificando dicho ácido nucleico la expresión de la proteína CmWIP1 («*C. melo Zinc Finger Protein*») de secuencia SEQ ID N° 12,

45

- el alelo recesivo no funcional (g) que se distingue del alelo dominante (G) en un ácido nucleico no funcional y que comprende:

(i) un polinucleótido regulador (Pg) cuya secuencia de nucleótidos comprende al menos una mutación, una inserción o una delección con respecto al ácido nucleico de secuencia SEQ ID N° 13, conduciendo dicho ácido nucleico a una expresión reducida o nula de la proteína CmWIP1 de secuencia SEQ ID N° 12, o

50

(ii) un ácido nucleico (Ng) que codifica una proteína que difiere de la proteína CmWIP1 de secuencia SEQ ID N° 12 en la sustitución, la inserción o la delección de uno o varios aminoácidos y que no posee la actividad biológica de dicha proteína CmWIP1 en dicha planta dicotiledónea, o

55

b) un ácido nucleico según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8.

10. Célula hospedante transformada por un vector recombinante según la reivindicación 9, en que la célula hospedante comprende, en su genoma, un ácido nucleico artificialmente introducido por dicho vector recombinante, en que el ácido nucleico se escoge entre:

60

a) un elemento genético de control (G/g),

65

en que el elemento genético de control (G/g) se presenta en forma de un alelo dominante (G) o de un alelo recesivo (g):

- consistiendo el alelo dominante (G) en un ácido nucleico (NG), comprende:

(i) un polinucleótido regulador (PG) funcional en una planta dicotiledónea, y

(ii) un ácido nucleico cuya expresión está regulada por el polinucleótido regulador (PG), codificando dicho ácido nucleico la expresión de la proteína CmWIP1 («*C. melo Zinc Finger Protein*») de secuencia SEQ ID N° 12,

- el alelo recesivo no funcional (g) que se distingue del alelo dominante (G) en un ácido nucleico no funcional y que comprende:

(i) un polinucleótido regulador (Pg) cuya secuencia de nucleótidos comprende al menos una mutación, una inserción o una delección con respecto al ácido nucleico de secuencia SEQ ID N° 13, conduciendo dicho ácido nucleico a una expresión reducida o nula de la proteína CmWIP1 de secuencia SEQ ID N° 12, o

(ii) un ácido nucleico (Ng) que codifica una proteína que difiere de la proteína CmWIP1 de secuencia SEQ ID N° 12 en la sustitución, la inserción o la delección de uno o varios aminoácidos y que no posee la actividad biológica de dicha proteína CmWIP1 en dicha planta dicotiledónea, o

b) un ácido nucleico según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8.

11. Célula hospedante según la reivindicación 10, caracterizada porque se trata de una célula de planta perteneciente a la familia de las cucurbitáceas y, preferentemente, a la especie *cucumis melo*.

12. Planta perteneciente a la familia de las cucurbitáceas transformada mediante un vector recombinante según la reivindicación 9, en que dicha planta comprende, en su genoma, un ácido nucleico artificialmente introducido por dicho vector recombinante, en que el ácido nucleico se escoge entre:

a) un elemento genético de control (G/g),

en que el elemento genético de control (G/g) se presenta en forma de un alelo dominante (G) o de un alelo recesivo (g):

- consistiendo el alelo dominante (G) en un ácido nucleico (NG), comprende:

(i) un polinucleótido regulador (PG) funcional en una planta dicotiledónea, y

(ii) un ácido nucleico cuya expresión está regulada por el polinucleótido regulador (PG), codificando dicho ácido nucleico la expresión de la proteína CmWIP1 («*C. melo Zinc Finger Protein*») de secuencia SEQ ID N° 12,

- el alelo recesivo no funcional (g) que se distingue del alelo dominante (G) en un ácido nucleico no funcional y que comprende:

(i) un polinucleótido regulador (Pg) cuya secuencia de nucleótidos comprende al menos una mutación, una inserción o una delección con respecto al ácido nucleico de secuencia SEQ ID N° 13, conduciendo dicho ácido nucleico a una expresión reducida o nula de la proteína CmWIP1 de secuencia SEQ ID N° 12, o

(ii) un ácido nucleico (Ng) que codifica una proteína que difiere de la proteína CmWIP1 de secuencia SEQ ID N° 12 en la sustitución, la inserción o la delección de uno o varios aminoácidos y que no posee la actividad biológica de dicha proteína CmWIP1 en dicha planta dicotiledónea, o

b) un ácido nucleico según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8.

13. Planta transformada según la reivindicación 12, caracterizada porque comprende al menos un alelo (G) como se define en la reivindicación 1.

14. Célula hospedante, transformada por:

(i) un vector recombinante que comprende un ácido nucleico escogido entre:

- un ácido nucleico que determina un alelo A o a como se define en la reivindicación 1,

- un ácido nucleico que comprende, desde el extremo 5' hacia el extremo 3', al menos:

(i) una secuencia que tiene al menos un 95% de identidad con el polinucleótido que va desde el nucleótido 5907 hasta el nucleótido 6086 de la secuencia SEQ ID N° 1,

- (ii) una secuencia que tiene al menos un 95% de identidad con el polinucleótido que va desde el nucleótido 6181 hasta el nucleótido 6467 de la secuencia SEQ ID N° 1, y
- 5 (iii) una secuencia que tiene al menos un 95% de identidad con el polinucleótido que va desde el nucleótido 7046 hasta el nucleótido 7915 en la secuencia SEQ ID N° 1,
- un ácido nucleico en forma de alelo (A), como se define en la reivindicación 2, de secuencia SEQ ID N°1;
- 10 - un ácido nucleico en forma de alelo (a), como se define en la reivindicación 2, de secuencia SEQ ID N° 2,
- un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que va desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 5906 de la secuencia SEQ ID N° 1,
- 15 - un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que porta al menos una alteración escogida entre una mutación, una inserción o una delección, con respecto al ácido nucleico que va desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 5907 de la secuencia SEQ ID N° 1, conduciendo dicho ácido nucleico alterado a una expresión alterada de la proteína ACS de secuencia SEQ ID N° 3, cuando controla la expresión de dicha proteína, con respecto a la expresión de la proteína ACS controlada por el ácido nucleico que va desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 5907
- 20 de la secuencia SEQ ID N° 1, y
- un ácido nucleico que comprende una secuencia que va desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 3650 de la secuencia SEQ ID N° 2, y
- 25 (ii) un vector recombinante según la reivindicación 9,
- en la que la célula hospedante comprende, en su genoma, un ácido nucleico artificialmente introducido por dicho vector recombinante.
- 30 15. Célula hospedante según la reivindicación 14, caracterizada porque se trata de una célula de planta perteneciente a la familia de las cucurbitáceas y, preferentemente, a la especie *cucumis melo*.
16. Ácido nucleico utilizable como cebador, que se hibrida específicamente con un ácido nucleico según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8.
- 35 17. Procedimiento de detección de la presencia de un alelo (G) o (g) como se define en la reivindicación 1, comprendiendo dicho método las etapas siguientes:
- 1) poner en contacto una sonda o una pluralidad de sondas de nucleótidos que se hibridan específicamente con un
- 40 ácido nucleico según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, con la muestra que va a ser ensayada,
- 2) detectar el complejo eventualmente formado entre la o las sondas y el ácido nucleico presente en la muestra.
18. Procedimiento de obtención de plantas artificialmente mutadas en el gen que codifica la proteína CmWIP1, que comprende las etapas siguientes:
- 45 a) generar una colección de plantas dicotiledóneas mutantes mediante mutagénesis química.
- b) seleccionar en la colección de plantas mutantes generada en la etapa a) las plantas que poseen una mutación o
- 50 más de una mutación en el gen que codifica la proteína CmWIP1,
- c) seleccionar entre las plantas mutantes seleccionadas en la etapa b), las plantas que expresan el fenotipo asociado al alelo (g) del elemento genético (G/g) como se define en la reivindicación 1.
- 55 19. Procedimiento según la reivindicación 18, caracterizado porque las plantas son además mutadas en el gen que codifica la proteína ACS y porque:
- se seleccionan en la etapa b) las plantas (i) que poseen una mutación o más de una mutación en el gen que
- 60 codifica la proteína CmWIP1 y (ii) que poseen una mutación o más de una mutación en el gen que codifica la proteína ACS,
- se seleccionan en la etapa c), entre las plantas mutadas en el gen que codifica la proteína CmWIP1 y en el gen que codifica la proteína ACS, las plantas que expresan al mismo tiempo el fenotipo asociado al alelo (g) del elemento genético (G/g) y el fenotipo asociado al alelo (a) del elemento genético (A/a).
- 65 20. Procedimiento para la obtención de una planta transformada perteneciente a la familia de las cucurbitáceas,

caracterizado porque comprende las etapas siguientes:

5 a) transformación de al menos una célula vegetal de una planta de interés que no comprende el alelo (G) como se define en la reivindicación 1 en su genoma, mediante una secuencia de nucleótidos (NG) como se define en la reivindicación 1, o un vector recombinante que comprende este ácido nucleico;

b) selección de las células transformadas obtenidas en la etapa (a) que se han integrado en su ácido nucleico (NG);

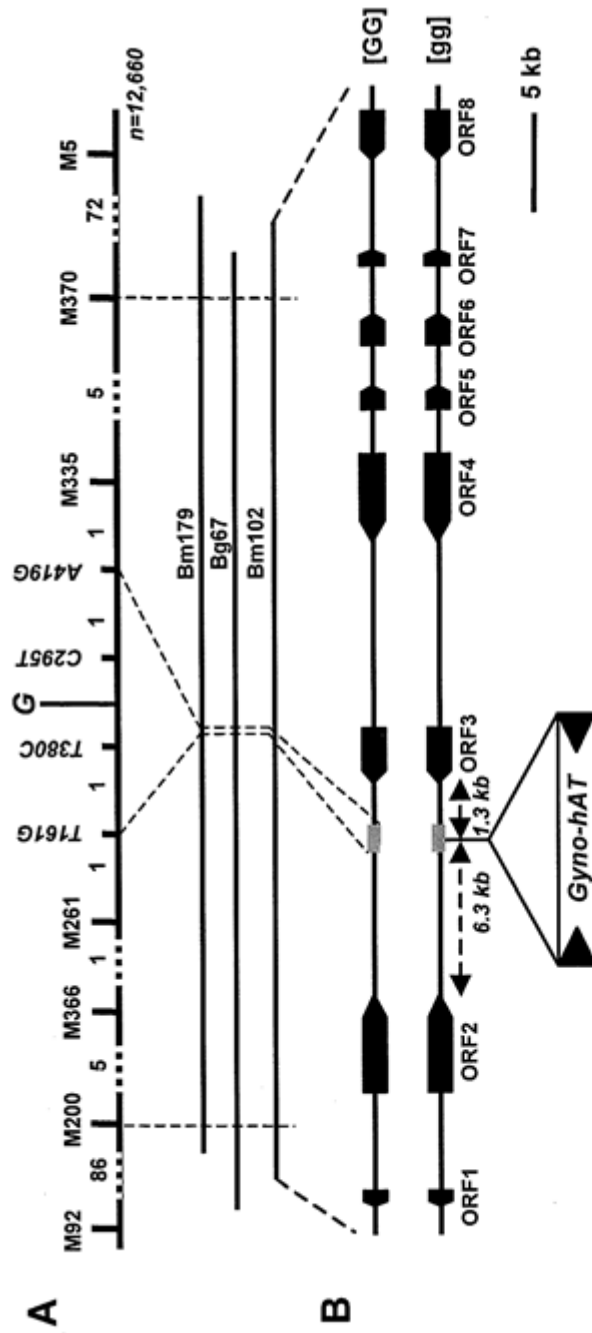
10 c) regeneración de una planta transformada a partir de las células transformadas obtenidas en la etapa b).

21. Procedimiento para la obtención de una planta transformada perteneciente a la familia de las cucurbitáceas, caracterizado porque comprende las etapas siguientes:

15 a) transformación de al menos una célula vegetal de una planta de interés que comprende el alelo (G) como se define en la reivindicación 1 en su genoma, mediante un polinucleótido regulador (Pg) no funcional o mediante un ácido nucleico (Ng) que codifica una proteína CmWIP1 alterada, como se define en la reivindicación 1, o mediante un ácido nucleico (NG) antisentido,

20 b) selección de las células transformadas procedentes de una planta obtenida en la etapa a) y que han integrado en su genoma al menos una copia de un polinucleótido regulador (Pg) no funcional o de un ácido nucleico (Ng) que codifica una proteína CmWIP1 alterada, como se define en la reivindicación 1, o que ya no comprenden el alelo (G),

c) regeneración de una planta transformada a partir de las células transformadas obtenidas en la etapa b).



Figuras 1A y 1B

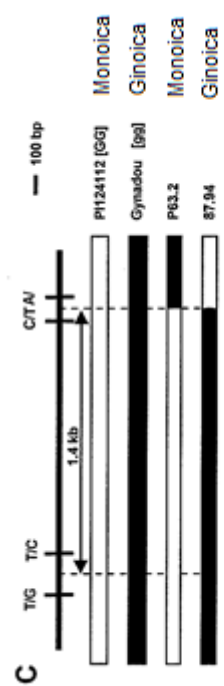


Figure 1C

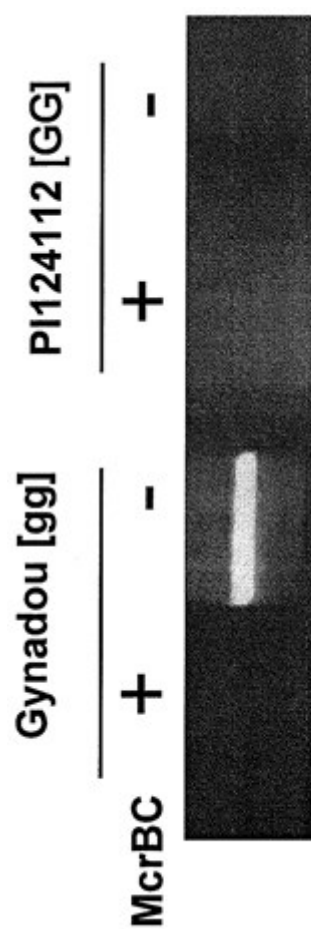


Figura 2

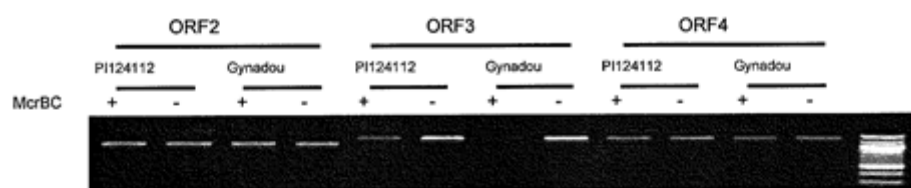
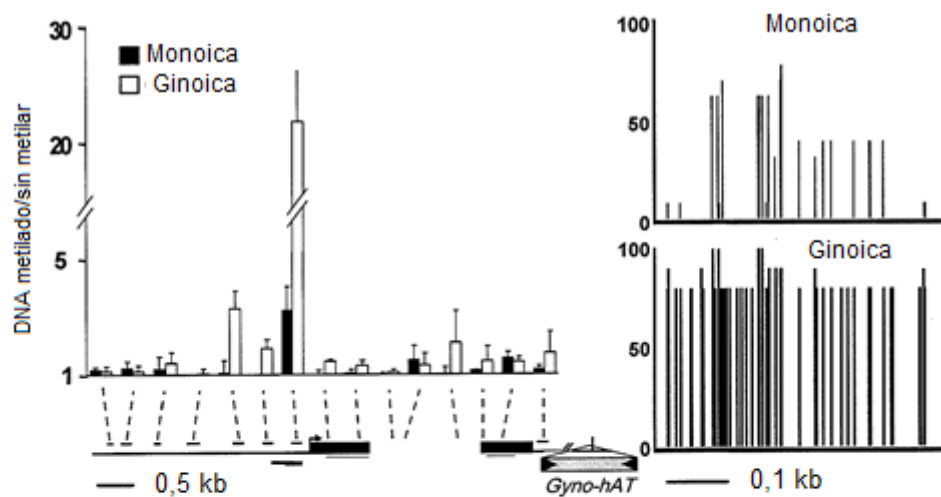


Figura 3A



Figuras 3A, 3B, 3C

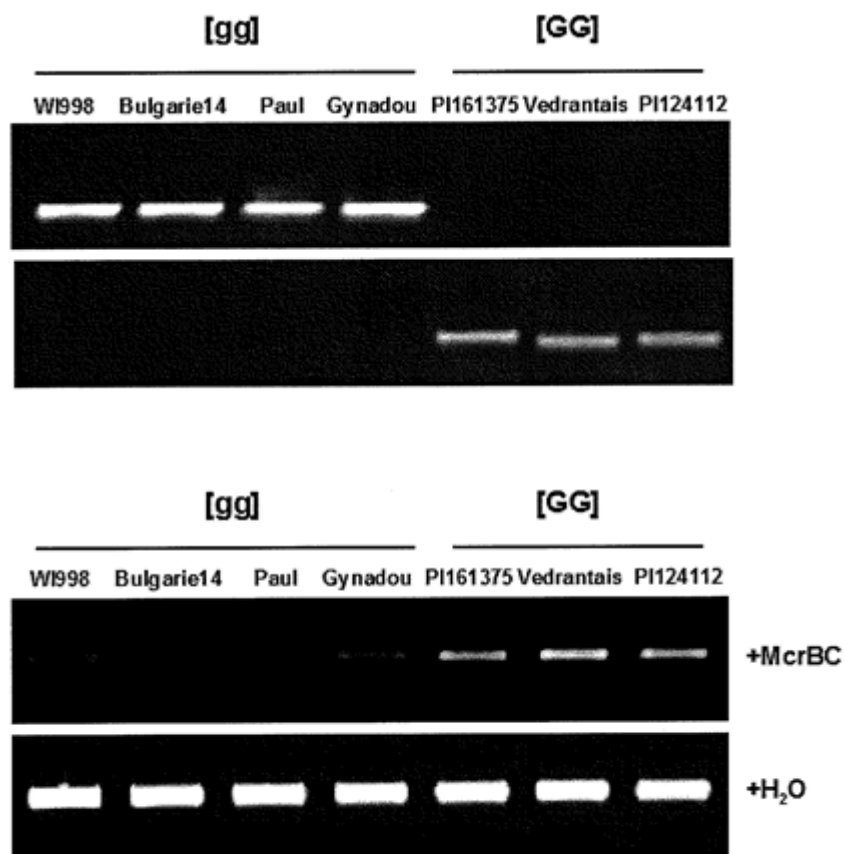


Figura 4

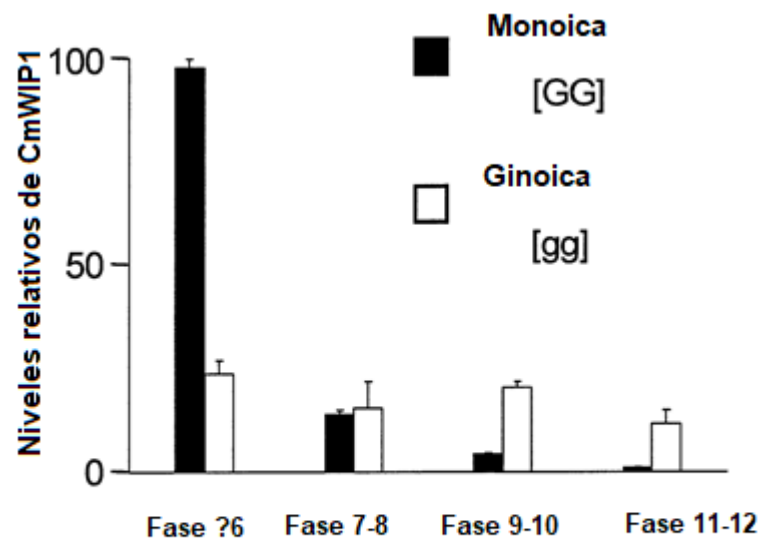


Figura 5

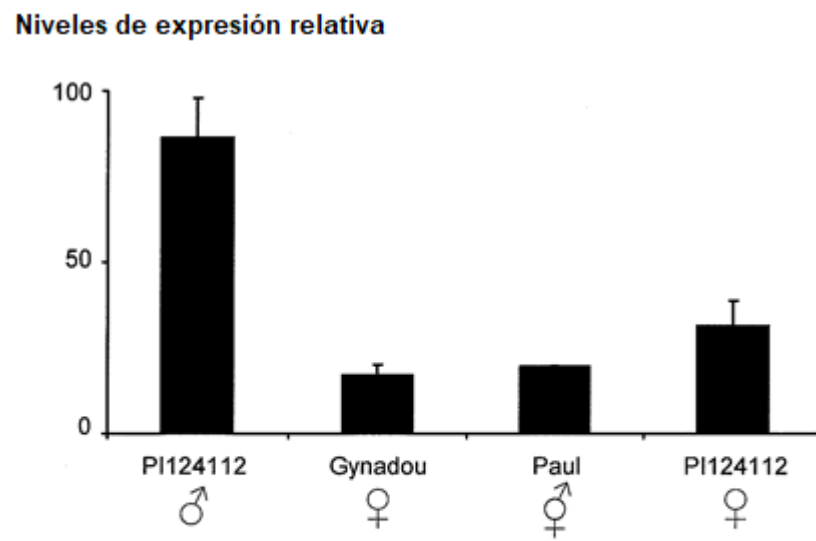


Figura 6

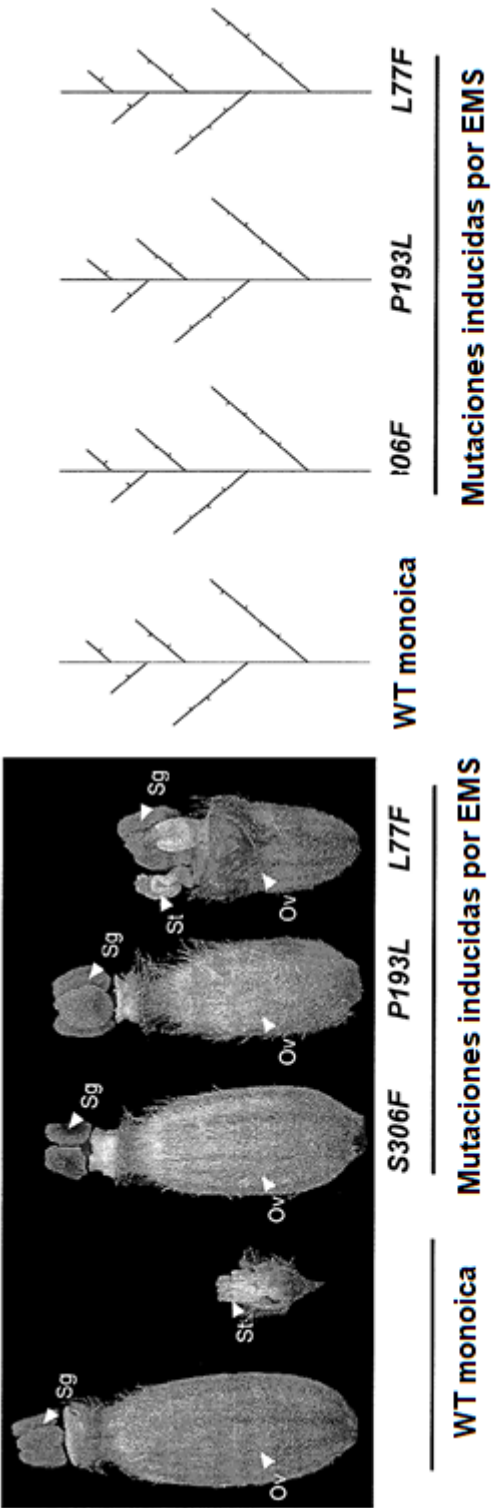


Figura 7

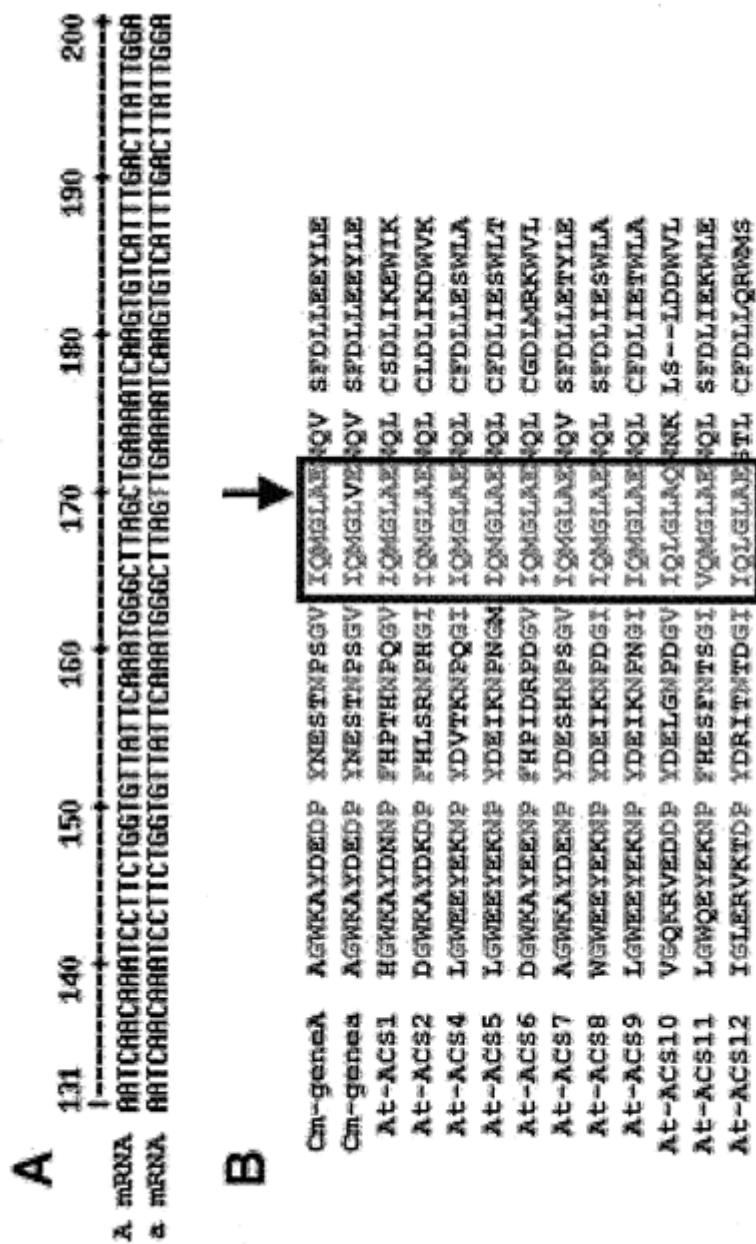


Figura 8

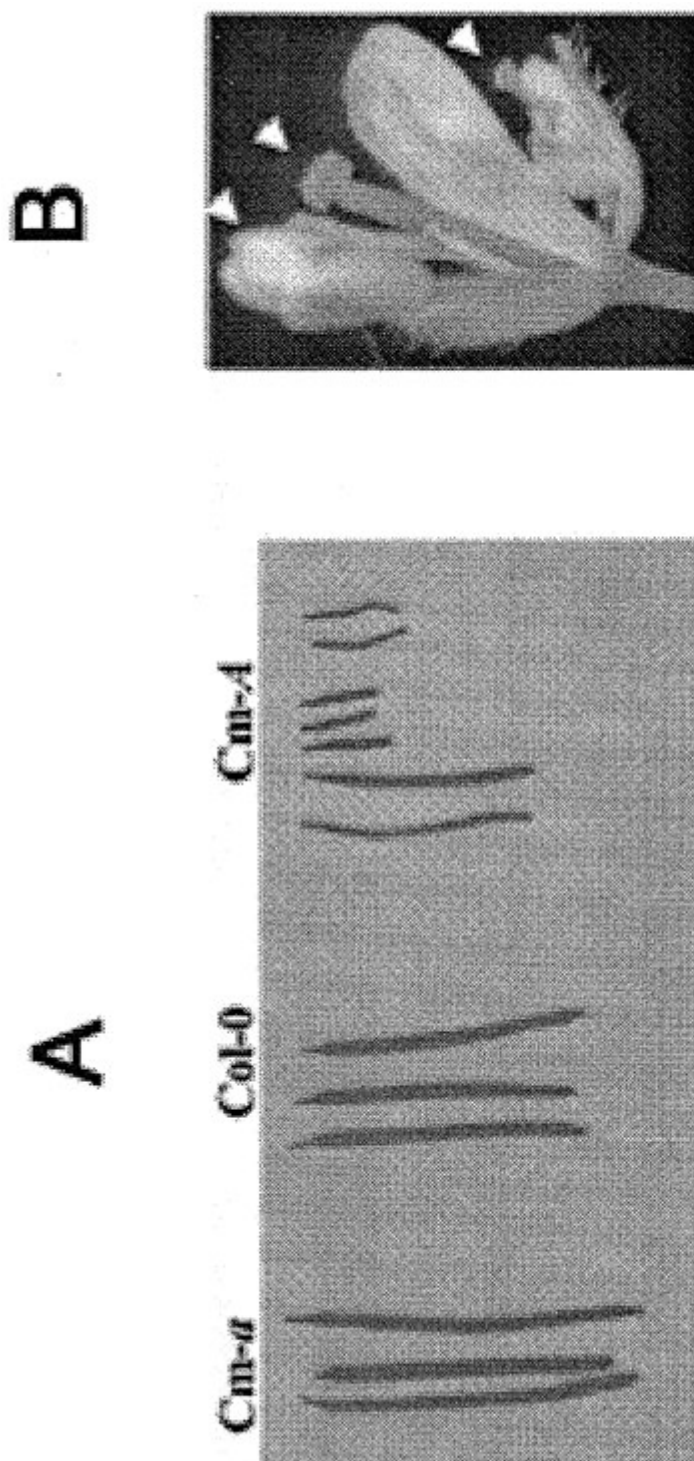


Figura 9