

ГАЛУЗЬ ТЕХНІКИ ДО ЯКОЇ НАЛЕЖИТЬ ВІНАХІД

Цей винахід стосується рослин кукурудзи, що мають підвищену стійкість або толерантність до патогену, зокрема, підвищену стійкість або толерантність до *Exserohilum turcicum*.

ПЕРЕДУМОВИ СТВОРЕННЯ ВІНАХОДУ

У кукурудзі (*Zea mays* L.) міститься велика кількість грибкових патогенів, що викликають захворювання листя. Гриб, який може завдати найбільших збитків у тропічних, а також у помірних кліматичних умовах, як-от умови значної частини Європи та Північної Америки, а також Африки та Індії, відомий під назвою *Helminthosporium turcicum* або його синонім *Exserohilum turcicum* (Pass.) Леонард та Саггс (телеоморф: *Setosphaeria turcica* (Латтрелл) Леонард і Саггс). *H. turcicum* є причиною плямистості листя, відомої як "Гельмінтоспоріозна плямистість листя кукурудзи" (NCLB), яка може приймати епідемічні масштаби у вологі роки, вражаючи вразливі сорти кукурудзи і викликаючи величезні збитки і значні втрати врожаю на 30 % і більш широких територіях [Перкінс і Педерсен, 1987; Раймундо і Хукер, 1981; Ульструп і Майлз, 1957]. Отже, з 1970-х років ведеться пошук природної стійкості генетичного матеріалу. Нині відома як кількісна, також і якісна стійкість. У той час, як оліго- або полігенно успадкована кількісна стійкість здається неповною і неспецифічною щодо раси, і залежить від додаткових і частково домінуючих генів, якісна стійкість зазвичай залежить від раси і може успадковуватися через окремі, переважно домінуючі гени, як-от Ht1, Ht2, Ht3, Htm1 або Htn1 [Ліпс і співавт., 1997; Вельц і Гейгер, 2000]. Зворотні схрещування в багатьох часто використовуваних інбредних лініях кукурудзи, як-от W22, A619, B37 або B73 успішно призвели до інтрогресії генів HT, де вони виявляють часткове домінування та експресію залежно від відповідного генетичного фону [Вельц, 1998].

Незважаючи на цю складну генетичну архітектуру стійкості до NCLB у кукурудзі, досі переважно використання гена Ht1 у кукурудзі разом з частковою кількісною стійкістю було достатнім для боротьби з гельмінтоспоріозом [Вельц, 1998]. Підставою для цього є те, що в усьому світі раси 0 і 1 *H. turcicum* найбільш поширені (приблизно 55 %) [Ліпс і співавт., 1997; Фергюсон і Карсон, 2007], у той час як інші раси, такі як 2N та 23N, зустрічаються рідко, та й то на географічно обмежених територіях [Могаддам і Патакі, 1994; Джордан і співавт., 1983; Ліпс і Хайт, 1982; Тхакур і співавт., 1989; Вельц, 1998]. Ця раса 0 є авірулентною відносно рослини кукурудзи з Ht1, тому при забезпеченні відповідної кількісної стійкості рослина кукурудзи виявляє достатню загальну стійкість до NCLB. Однак у багатьох дослідженнях повідомлялося про поширення менш популярних рас [Джордан і співавт., 1983; Вельц, 1998; Пратт і Гордон, 2006]. Причини цього пов'язані з популяційною динамікою патогену, яка дозволяє змінювати вірулентність патогену завдяки новим мутаціям у генах вірулентності та новим комбінаціям доступних генів вірулентності. Зрештою, це може призвести до появи нових, іноді більш агресивних патогенних рас. У Бразилії, наприклад, популяція *H. turcicum* вже, мабуть, значно більш різноманітна з точки зору расового складу, ніж, наприклад, в [Північній Америці. Джанасі і співавт. (1996)] повідомили про раси *H. turcicum*, які вже подолали стійкість, надану геном Ht1. Крім того, існує нестабільність генів стійкості до певних факторів навколишнього середовища, як-от температура та інтенсивність світла в деяких кліматичних зонах [Тхакур і співавт., 1989]. Наслідком цього розвитку є те, що глобальне використання нових генів стійкості до HT або таких генів, яким досі приділялося мало уваги при виробництві комерційних рослин кукурудзи, набуває все більшого значення з метою досягнення ширшої та тривалішої стійкості кукурудзи до *H. turcicum*. Початкові підходи щодо цього були здійснені ще у 1998 р. Патакі і співавт. Стійкість до NCLB у елітній кукурудзі sh2 була покращена за допомогою комбінації Ht1 та Htn1.

Тим часом відомо багато джерел нової стійкості до NCLB у формі QTL (локус кількісної ознаки) [Галіано-Карнейро, А.Л. та Міданер, Т. (2017). Генетика стійкості і патогенності в патосистемі кукурудза/*Setosphaeria turcica* і значення для селекції. *Frontiers in plant science*, 8, 1490], проте функціональна валідація цих QTL, а також молекулярна характеристика відсутні - гени-збудники невідомі. Розробка маркерів дуже складна і оптимальне використання цієї стійкості в селекції обмежене. Проте, зберігається потреба в добре охарактеризованих генах стійкості, які можуть бути використані для виведення нових сортів рослин, стійких до NCLB.

Отже, метою цього винаходу є ідентифікація і/або додаткова характеристика генів стійкості рослин, що кодують поліпептиди, що надають або підвищують стійкість до грибкового патогену, як-от *Helminthosporium turcicum*.

КОРОТКИЙ ВИКЛАД СУТНОСТІ ВІНАХОДУ

Цей винахід стосується рослин кукурудзи, що мають підвищену стійкість або толерантність до патогену, зокрема, підвищену стійкість або толерантність до патогену, що викликає Гельмінтоспоріозну плямистість листя кукурудзи, тобто до *Exserohilum turcicum* (також відомому як *Helminthosporium turcicum*). Такі рослини кукурудзи можуть бути охарактеризовані як такі, що мають конкретні молекулярні маркери, як визначено в цьому документі в іншому місці. Такі рослини кукурудзи можуть бути охарактеризовані як такі, що мають певний ген стійкості, як визначено в цьому документі в іншому місці. Цей винахід також стосується способів генерування таких рослин кукурудзи, а також способів ідентифікації таких рослин кукурудзи. Цей винахід стосується використання таких рослин кукурудзи для боротьби з зараженістю патогеном. Цей винахід також стосується (виділених) полінуклеїнових кислот, таких як полінуклеїнові кислоти, що містять або кодують молекулярні маркери або гени стійкості, або полінуклеїнові кислоти, що специфічно гібридизуються з ними, а також використання таких полінуклеїнових кислот для ідентифікації або генерування рослин кукурудзи за цим винаходом. Цей винахід також стосується рослин кукурудзи або частин рослин, отриманих або отримуваних описаним у цьому документі способом, а також рослин кукурудзи або частин рослин, що містять полінуклеїнові кислоти, як описано в цьому документі.

Маркери за цим винаходом, зокрема, придатні для ідентифікації як алелю HT2, так і алелю HT3, на відміну від раніше відомих маркерів. Отже, діагностична цінність маркерів за цим винаходом набагато вище, оскільки маркери можуть бути використані в широкому діапазоні генотипів. Маркери за цим винаходом (а також їхні комбінації), зокрема, унікальні для алелів як HT2, так і HT3.

Цей винахід, зокрема, охоплюється будь-якою або будь-якою комбінацією щонайменше одного з наведених

1. Спосіб ідентифікації рослини кукурудзи або частини рослини, переважно рослини кукурудзи або частини рослини, що має (підвищену) стійкість і/або толерантність до патогену, переважно при цьому згаданим патогеном є *Exserohilum turcicum*, що містить скринінг на присутність, виявлення або ідентифікацію поліуклеїнової кислоти (що міститься у хромосомному інтервалі хромосоми кукурудзи 8 між молекулярними маркерами PZE-108092843 і PZA-003182005), що містить будь-який щонайменше один молекулярний маркер (алель) MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071 і MA0064 у рослині кукурудзи або частини рослини.

3. Спосіб ідентифікації рослини кукурудзи або частини рослини, переважно рослини кукурудзи або частини рослини, що має (підвищену) стійкість і/або толерантність до патогену, переважно при цьому згаданим патогеном є *Exserohilum turcicum*, що містить скринінг на присутність, виявлення або ідентифікацію полінуклеїнової кислоти (що міститься у хромосомному інтервалі хромосоми кукурудзи 8 між молекулярними маркерами PZE-108092843 і PZA-003182005), що містить будь-які щонайменше три молекулярних маркери (алелю) MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071 і MA0064 у рослині кукурудзи або частини рослини.

5. Спосіб за будь-яким із тверджень 1-4, при цьому згадана поліуклеїнова кислота додатково містить молекулярний маркер (алель) PZE-108095339.

7. Спосіб за будь-яким із тверджень 1-6, що містить скринінг на присутність, виявлення або ідентифікацію будь-якого щонайменше одного молекулярного маркера (алелю) MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071 і MA0064, та необов'язково PZE-108095339 і/або Affx-91328160 у рослині кукурудзи або частини рослини.

8. Спосіб за будь-яким із тверджень 1-6, що містить скринінг на присутність, виявлення або ідентифікацію будь-яких щонайменше двох молекулярних маркерів (алелів) MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071 і MA0064, та необов'язково PZE-108095339 і/або Affx-91328160 у рослині кукурудзи або частини рослини.

9. Спосіб за будь-яким із тверджень 1-6, що містить скринінг на присутність, виявлення або ідентифікацію будь-яких щонайменше трьох молекулярних маркерів (алелів) MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071 і MA0064, та необов'язково PZE-108095339 і/або Affx-91328160 у рослині кукурудзи або частини рослини.

10. Спосіб за будь-яким із тверджень 1-6, що містить скринінг на присутність, виявлення або ідентифікацію будь-яких щонайменше чотирьох молекулярних маркерів (алелів) MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071, MA0064 та необов'язково PZE-108095339 і/або Affx-91328160 у рослині кукурудзи або частини рослини.

11. Спосіб за будь-яким із тверджень 1-6, що містить скринінг на присутність, виявлення або ідентифікацію будь-яких щонайменше п'ятих молекулярних маркерів (алелів) MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071, MA0064 та необов'язково PZE-108095339 і/або Affx-91328160 у рослині кукурудзи або частини рослини.

12. Спосіб за будь-яким із тверджень 1-6, що містить скринінг на присутність, виявлення або ідентифікацію молекулярного маркера (алеля) MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071 і MA0064, PZE-108095339 та Affx-91328160 у рослині кукурудзи або частини рослини.

13. Спосіб за будь-яким із тверджень 1-6, що містить скринінг на присутність, виявлення або ідентифікацію молекулярного маркера (алелю) MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071 та MA0064.

14. Спосіб за будь-яким із тверджень 1-13, при цьому згадана полінуклеїнова кислота фланкована молекулярним маркером (алелем) MA0045 і Affx-91328160 і включає його.

15. Спосіб за будь-яким із тверджень 1-13, при цьому згадана поліуклеїнова кислота фланкована молекулярним маркером (алелем) MA0045 і PZE-108095339 і включає його.

16. Спосіб за будь-яким із тверджень 1-13, при цьому згадана поліуклеїнова кислота фланкована молекулярним маркером (алелем) MA0045 та MA0064, MA0045 та MA0063, MA0045 та MA0070 або MA0045 та MA0045 і включає його.

17. Спосіб за будь-яким із тверджень 1-16, при цьому згадана поліуклеїнова кислота не містить (HT2 або HT3) молекулярний маркер (алель) PZE-108092843 і/або PZA-003182005.

18. Спосіб за будь-яким із тверджень 1-16, при цьому згаданий полінуклеотид не містить (НТ2 або НТ3) молекулярний маркер (алель) PZE-108094590 і/або PZE-108096610.

19. Спосіб за будь-яким із тверджень 1-16, при цьому згаданий полінуклеотид не містить (HT2 або HT3) молекулярний маркер (алель) PZE-108094590 і/або PZE-108096610.

20. Спосіб за будь-яким із тверджень 1-16, при цьому згаданий полінуклеотид не містить (НТ2 або НТ3) молекулярний маркер (алель) MA0043 і/або MA0025.

21. Спосіб ідентифікації рослини кукурудзи або частини рослини, переважно рослини кукурудзи або частини рослини, що має (підвищену) стійкість і/або толерантність до патогену, переважно, при цьому, згаданим патогеном є *Exserohilum turcicum*, що містить скринінг на присутність, виявлення або ідентифікацію будь-якого

22. Спосіб ідентифікації рослини кукурудзи або частини рослини, переважно рослини кукурудзи або частини рослини, що має (підвищену) стійкість і/або толерантність до патогену, переважно, при цьому, згаданим патогеном є *Exserohilum turcicum*, що містить скринінг на присутність, виявлення або ідентифікацію будь-яких згаданих двох молекулярних маркерів (алелів) MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071 і MA0064, і необов'язково PZE-108095339 і/або Affx-91328160 (що містяться в хромосомному інтервалі хромосоми кукурудзи 8 між молекулярними маркерами PZE-108092843 та PZA-003182005) у рослині кукурудзи або частини рослини.

24. Спосіб ідентифікації рослини кукурудзи або частини рослини, переважно рослини кукурудзи або частини рослини, що має (підвищену) стійкість і/або толерантність до патогену, переважно, при цьому, згаданим патогеном є *Exserohilum turcicum*, що містить скринінг на присутність, виявлення або ідентифікацію будь-яких згаданих чотирьох молекулярних маркерів (алелів) MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071, MA0064 і необов'язково PZE-108095339 і/або Affx-91328160 (що містяться в хромосомному інтервалі хромосоми кукурудзи 8 між молекулярними маркерами PZE-108092843 та PZA-003182005) у рослині кукурудзи або частини рослини.

26. Спосіб ідентифікації рослини кукурудзи або частини рослини, переважно рослини кукурудзи або частини рослини, що має (підвищену) стійкість і/або толерантність до патогену, переважно, при цьому, згаданим патогеном є *Exserohilum turcicum*, що містить скринінг на присутність, виявлення або ідентифікацію молекулярного маркера (алелю) MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071, MA0064 і необов'язково PZE-108095339 і/або Affx-91328160 (що містяться в хромосомному інтервалі хромосоми кукурудзи 8 між молекулярними маркерами PZE-108092843 та PZA-003182005) у рослині кукурудзи або частини рослини.

28. Спосіб за будь-яким із тверджень 21-27, що додатково містить скринінг на присутність, виявлення або ідентифікацію молекулярного маркера (алелю) PZE-108092843 і/або PZA-003182005.

30. Спосіб за будь-яким із тверджень 21-27, що додатково містить скринінг на присутність, виявлення або ідентифікацію молекулярного маркера (алелю) PZE-108094590 і/або PZA-108096469.

32. Спосіб за будь-яким із тверджень 1-31, що додатково містить етап ідентифікації та необов'язково відбору згаданої рослини або частини рослини, якщо присутній згаданий щонайменше один, щонайменше два, щонайменше три, щонайменше чотири, щонайменше п'ять молекулярних маркерів (алелів) MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071, MA0064 і необов'язково PZE-108095339 і/або Affx-91328160.

33. Спосіб за будь-яким із тверджень 1-31, що додатково містить етап ідентифікації та необов'язково відбору згаданої рослини або частини рослини, якщо відсутній молекулярний маркер (алеель) PZE-108092843 i/або PZA-003182005, PZE-108092843 i/або PZA-003182005, PZE-108094590 i/або PZE-108096469, i/або MA0043 i/або MA0025.

MA0045 являє собою SNP, який являє собою А у положенні, що відповідає положенню 156,789,751 п.о. хромосоми 8 B73 еталонного геному AGPv4;

- MA0063 являє собою SNP, який являє собою Т у положенні, що відповідає положенню 156,543,061 п.о. хромосоми 8 B73 еталонного геному AGPv4:

- MA0071 являє собою SNP, який являє собою С у положенні, що відповідає положенню 156,694,641 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4:

- MA0064 являє собою SNP, який полягає в положенні, що відповідає положенню 156,541,890 п.о. хромосоми 8 B73 еталонного геному AGPv4:

- PZE-108095339 являє собою SNP, який являє собою G у положенні, що відповідає положенню 156,378,424 п.о. хромосоми 8 B73 еталонного геному AGPv4;
 - Affx-91328160 являє собою SNP, який являє собою G у положенні, що відповідає положенню 156,372,823 п.о. хромосоми 8 B73 еталонного геному AGPv4;
 - PZE-108092843, який являє собою SNP, який являє собою C у положенні, що відповідає положенню 154,456,106 п.о. хромосоми 8 B73 еталонного геному AGPv4;
 - PZE-108094590, який являє собою SNP, який являє собою G у положенні, що відповідає положенню 155,860,812 п.о. хромосоми 8 B73 еталонного геному AGPv4;
 - MA0043, який являє собою SNP, який являє собою A у положенні, що відповідає положенню 155,999,733 п.о. хромосоми 8 B73 еталонного геному AGPv4;
 - MA0025, який являє собою SNP, який являє собою G у положенні, що відповідає положенню 156,967,599 п.о. хромосоми 8 B73 еталонного геному AGPv4;
 - PZE-108096469, який являє собою SNP, який являє собою G у положенні, що відповідає положенню 157,266,475 п.о. хромосоми 8 B73 еталонного геному AGPv4;
 - PZE-108096610 являє собою SNP, який являє собою G у положенні, що відповідає положенню 157,375,673 п.о. хромосоми 8 B73 еталонного геному AGPv4;
 - PZA-003182005, який являє собою SNP, який являє собою A у положенні, що відповідає положенню 158,167,578 п.о. хромосоми 8 B73 еталонного геному AGPv4.
35. Спосіб за будь-яким із тверджень 1-34, який являє собою спосіб ідентифікації рослини кукурудзи або частини рослини, що має (підвищену) стійкість до патогену.
36. Спосіб за будь-яким із тверджень 1-35, який являє собою спосіб ідентифікації рослини кукурудзи або частини рослини, що має (підвищену) стійкість до грибового патогену.
37. Спосіб за будь-яким з тверджень 35-36, при цьому, згаданий патоген являє собою *Exserohilum* sp.
38. Спосіб за будь-яким з тверджень 35-37, при цьому, згаданий патоген являє собою *Exserohilum turcicum*.
39. Спосіб за будь-яким з тверджень 35-37, при цьому, згаданий патоген являє собою *Exserohilum turcicum*, що викликає NCLB.
40. Спосіб за будь-яким із тверджень 1-39, який являє собою спосіб ідентифікації рослини кукурудзи або частини рослини, що має (підвищену) стійкість до Гельмінтоспоріозної плямистості листя кукурудзи (NCLB).
41. Спосіб за будь-яким із тверджень 1-40, який являє собою спосіб ідентифікації рослини кукурудзи або частини рослини, що містить (фрагмент а, переважно RLK1, що містить фрагмент а) алель HT2 або HT3.
42. Спосіб генерування рослини кукурудзи, переважно рослини кукурудзи, що має підвищену стійкість і/або толерантність до патогену, або його частини, переважно, при цьому згаданий патоген являє собою *Exserohilum turcicum*, що містить введення в геном рослини або частини рослини полінуклеїнової кислоти, як це визначено у будь-якому із тверджень 1-41.
43. Спосіб генерування рослини кукурудзи або частини рослини, що містить введення в геном рослини кукурудзи або частини рослини полінуклеїнової кислоти, що містить (фрагмент а, переважно RLK1, що містить фрагмент а) алель HT2 або HT3, який фланкований молекулярними маркерами PZE-108092843 і PZA-003182005 або його фрагмент, що містить ген RLK1 і щонайменше один молекулярний маркер (алель) MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071, MA0064 і необов'язково PZE-108095339, і/або Affx-91328160.
44. Спосіб генерування рослини кукурудзи або частини рослини, що містить введення в геном рослини кукурудзи або частини рослини полінуклеїнової кислоти, що містить (фрагмент а, переважно RLK1, що містить фрагмент а) алель HT2 або HT3, який фланкований молекулярними маркерами PZE-108092843 і PZA-003182005 або його фрагмент, що містить ген RLK1 і щонайменше два молекулярних маркера (алелю) MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071, MA0064 і необов'язково PZE-108095339, і/або Affx-91328160.
45. Спосіб генерування рослини кукурудзи або частини рослини, що містить введення в геном рослини кукурудзи або частини рослини полінуклеїнової кислоти, що містить (фрагмент а, переважно RLK1, що містить фрагмент а) алель HT2 або HT3, який фланкований молекулярними маркерами PZE-108092843 і PZA-003182005 або його фрагмент, що містить ген RLK1 і щонайменше три молекулярних маркера (алелю) MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071, MA0064 і необов'язково PZE-108095339, і/або Affx-91328160.
46. Спосіб генерування рослини кукурудзи або частини рослини, що містить введення в геном рослини кукурудзи або частини рослини полінуклеїнової кислоти, що містить (фрагмент а, переважно RLK1, що містить фрагмент а) алель HT2 або HT3, який фланкований молекулярними маркерами PZE-108092843 і PZA-003182005 або його фрагмент, що містить ген RLK1 і щонайменше чотири молекулярних маркера (алелю) MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071, MA0064 і необов'язково PZE-108095339, і/або Affx-91328160.
47. Спосіб генерування рослини кукурудзи або частини рослини, що містить введення в геном рослини кукурудзи або частини рослини полінуклеїнової кислоти, що містить (фрагмент а, переважно RLK1, що містить фрагмент а) алель HT2 або HT3, який фланкований молекулярними маркерами PZE-108092843 і PZA-003182005 або його фрагмент, що містить ген RLK1 і щонайменше п'ять молекулярних маркерів (алелів) MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071, MA0064 і необов'язково PZE-108095339, і/або Affx-91328160.
48. Спосіб генерування рослини кукурудзи або частини рослини, що містить введення в геном рослини кукурудзи або частини рослини полінуклеїнової кислоти, що містить (фрагмент а, переважно RLK1, що містить фрагмент а) алель HT2 або HT3, який фланкований молекулярними маркерами PZE-108092843 і PZA-003182005 або його фрагмент, що містить ген RLK1 і молекулярний маркер (алель) MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071, MA0064 і необов'язково PZE-108095339, і/або Affx-91328160.
49. Спосіб за будь-яким із тверджень 42-48, при цьому, згадана полінуклеїнова кислота не містить щонайменше жодного (HT2 або HT3) молекулярного маркера (алелю) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 та MA0025.
50. Спосіб за будь-яким із тверджень 42-49, при цьому згадана полінуклеїнова кислота не містить (HT2 або

НТ3) молекулярних маркерів (алелів) PZE-108092843 і/або PZA-003182005.

51. Спосіб за будь-яким із тверджень 42-49, при цьому згаданий полінуклеотид не містить (НТ2 або НТ3) молекулярних маркерів (алелів) PZE-108094590 і/або PZE-108096610.

52. Спосіб за будь-яким із тверджень 42-49, при цьому згаданий полінуклеотид не містить (НТ2 або НТ3) молекулярних маркерів (алелів) PZE-108094590 і/або PZA-108096469.

53. Спосіб за будь-яким із тверджень 42-49, при цьому згаданий полінуклеотид не містить (НТ2 або НТ3) молекулярних маркерів (алелів) MA0043 і/або MA0025.

54. Спосіб за будь-яким із тверджень 42-53, при цьому введення в геном містить трансгенез.

55. Спосіб за будь-яким із тверджень 42-53, при цьому введення в геном містить інтрогресію.

56. Спосіб за будь-яким із тверджень 42-55, що містить трансформацію рослини або частини рослини, переважно рослинної клітини, більш переважно протопласту, за допомогою полінуклеїнової кислоти, як визначено в будь-якому із тверджень 1-41, і необов'язково регенерацію рослини зі згаданої рослинної клітини, переважно протопласту.

57. Спосіб за будь-яким із тверджень 42-56, при цьому згадана полінуклеїнова кислота, яку вводять, має іншу послідовність, ніж відповідна полінуклеїнова кислота рослини.

58. Спосіб генерування рослини кукурудзи або частини рослини, переважно рослини кукурудзи або частини рослини, що має підвищену стійкість і/або толерантність до патогену, переважно, при цьому згаданим патогеном є *Exserohilum turcicum*, що містить (а) надання першої рослини кукурудзи, ідентифікованої згідно з будь-яким із тверджень 1-40, або згенерованої згідно з будь-яким із тверджень 41-45, (б) схрещування згаданої першої рослини кукурудзи з другою рослиною кукурудзи, (с) відбір рослин-нащадків, що містять згадану полінуклеїнову кислоту, будь-який щонайменше один молекулярний маркер (алель) MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071, MA0064, PZE-108095339 та Affx-91328160; та необов'язково (d) збирання згаданої частини рослини кукурудзи зі згаданих нащадків.

59. Спосіб за будь-яким із тверджень 42-58, при цьому згадана рослина або частина рослини має підвищену стійкість і/або толерантність до патогену.

60. Спосіб за твердженням 59, при цьому згаданий патоген являє собою гриб, який переважно викликає гелмінтоспориозну плямистість листя кукурудзи.

61. Спосіб за будь-яким із тверджень 59-60, при цьому згаданий патоген являє собою *Exserohilum* sp.

62. Спосіб за будь-яким із тверджень 59-61, при цьому згаданий патоген являє собою *Exserohilum turcicum*.

63. Спосіб за будь-яким із тверджень 59-62, при цьому згаданий патоген являє собою *Exserohilum turcicum*, що викликає NCLB.

64. Спосіб за будь-яким із тверджень 1-63, при цьому згадана частина рослини являє собою клітину, тканину або орган.

65. Спосіб за будь-яким із тверджень 1-64, при цьому згадана частина рослини являє собою протопласт.

66. Спосіб за будь-яким із тверджень 1-64, при цьому згадана частина рослини являє собою насіння.

67. Спосіб за будь-яким із тверджень 1-64, при цьому згадана полінуклеїнова кислота або молекулярний маркер (алель) є гомозиготним.

68. Спосіб за будь-яким із тверджень 1-66, при цьому згадана полінуклеїнова кислота або молекулярний маркер (алель) є гетерозиготним.

69. (Виділена) полінуклеїнова кислота, що містить фрагмент геномного інтервалу хромосоми 8 *Zea mays* між молекулярними маркерами PZE-108092843 і PZA-003182005, і містить щонайменше один маркер (алель), обраний з MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071, MA0064, PZE-108095339 і/або Affx-91328160, його комплемент або зворотний комплемент.

70. (Виділена) Полінуклеїнова кислота, що містить фрагмент геномного інтервалу хромосоми 8 *Zea mays* між молекулярними маркерами PZE-108092843 та PZA-003182005, та містить маркер (алель) MA0045, його комплемент або зворотний комплімент.

71. (Виділена) Полінуклеїнова кислота, що містить фрагмент геномного інтервалу хромосоми 8 *Zea mays* між молекулярними маркерами PZE-108092843 та PZA-003182005, та містить маркер (алель) MA0062, його комплемент або зворотний комплімент.

72. (Виділена) Полінуклеїнова кислота, що містить фрагмент геномного інтервалу хромосоми 8 *Zea mays* між молекулярними маркерами PZE-108092843 та PZA-003182005, та містить маркер (алель) MA0063, його комплемент або зворотний комплімент.

73. (Виділена) Полінуклеїнова кислота, що містить фрагмент геномного інтервалу хромосоми 8 *Zea mays* між молекулярними маркерами PZE-108092843 та PZA-003182005, та містить маркер (алель) MA0070, його комплемент або зворотний комплімент.

74. (Виділена) Полінуклеїнова кислота, що містить фрагмент геномного інтервалу хромосоми 8 *Zea mays* між молекулярними маркерами PZE-108092843 та PZA-003182005, та містить маркер (алель) MA0071, його комплемент або зворотний комплімент.

75. (Виділена) Полінуклеїнова кислота, що містить фрагмент геномного інтервалу хромосоми 8 *Zea mays* між молекулярними маркерами PZE-108092843 та PZA-003182005, та містить маркер (алель) MA0064, його комплемент або зворотний комплімент.

76. (Виділена) Полінуклеїнова кислота, що містить фрагмент геномного інтервалу хромосоми 8 *Zea mays* між молекулярними маркерами PZE-108092843 та PZA-003182005, та містить маркер (алель) PZE-108095339, його комплемент або зворотний комплімент.

77. (Виділена) Полінуклеїнова кислота, що містить фрагмент геномного інтервалу хромосоми 8 *Zea mays* між молекулярними маркерами PZE-108092843 та PZA-003182005, та містить маркер (алель) Affx-91328160, його комплемент або зворотний комплімент.

78. (Виділена) полінуклеїнова кислота, що містить молекулярний маркер (алель), обраний із MA0045,

MA0062, MA0063, MA0070, MA0071, MA0064, PZE-108095339 і/або Affx-91328160, його комплемент або зворотний комплемент.

79. (Виділена) полінуклеїнова кислота, що містить молекулярний маркер (алель) MA0045, його комплемент або зворотний комплемент.

80. (Виділена) полінуклеїнова кислота, що містить молекулярний маркер (алель) MA0062, його комплемент або зворотний комплемент.

81. (Виділена) полінуклеїнова кислота, що містить молекулярний маркер (алель) MA0063, його комплемент або зворотний комплемент.

82. (Виділена) полінуклеїнова кислота, що містить молекулярний маркер (алель) MA0070, його комплемент або зворотний комплемент.

83. (Виділена) полінуклеїнова кислота, що містить молекулярний маркер (алель) MA0071, його комплемент або зворотний комплемент.

84. (Виділена) полінуклеїнова кислота, що містить молекулярний маркер (алель) MA0064, його комплемент або зворотний комплемент.

85. (Виділена) полінуклеїнова кислота, що містить молекулярний маркер (алель) PZE-108095339, його комплемент або зворотний комплемент.

86. (Виділена) полінуклеїнова кислота, що містить молекулярний маркер (алель) Affx-91328160, його комплемент або зворотний комплемент.

87. (Виділена) полінуклеїнова кислота, здатна специфічно гібридизуватися з полінуклеїновою кислотою за будь-яким із тверджень 69-86.

88. (Виділений) полінуклеотид за будь-яким із тверджень 69-87, при цьому згаданий полінуклеотид має довжину від 15 до 500 нуклеотидів, переважно від 15 до 100 нуклеотидів, переважно від 15 до 50 нуклеотидів, більш переважно від 15 до 35 нуклеотидів.

89. (Виділений) полінуклеотид за будь-яким із тверджень 69-88, при цьому згаданий полінуклеотид являє собою праймер або зонд.

90. (Виділений) полінуклеотид за будь-яким із тверджень 69-89, при цьому згаданий полінуклеотид являє собою алель-специфічний праймер або зонд.

91. (Виділений) полінуклеотид за твердженням 90, при цьому згаданий полінуклеотид являє собою праймер KASP.

92. (Виділений) полінуклеотид за будь-яким із тверджень 78-91, що містить фрагмент геномного інтервалу хромосоми 8 Zea mays між молекулярними маркерами PZE-108092843 і PZA-003182005, і що містить щонайменше один маркер (алель), обраний із MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071, MA0064, PZE-108095339 і/або Affx-91328160, його комплемент або зворотний комплемент.

93. Набір праймерів, здатних ампліфікувати полінуклеотид, що містить молекулярний маркер, обраний з MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071, MA0064, PZE-108095339 або Affx-91328160.

94. Рослина кукурудзи, переважно рослина кукурудзи, що має (підвищену) стійкість і/або толерантність до патогену, переважно, при цьому згаданий патоген являє собою *Exserohilum turcicum*, одержуваний способом за будь-яким із тверджень 42-68, або його рослинна частина, або його нащадки.

95. Рослина кукурудзи, переважно рослина кукурудзи, що має підвищену стійкість і/або толерантність до патогену, переважно, при цьому згаданий патоген являє собою *Exserohilum turcicum*, що містить полінуклеїнову кислоту або щонайменше один молекулярний маркер (алель), як визначено у будь-якому із тверджень 1-41.

96. Рослина кукурудзи або частина рослини, що містить будь-який щонайменше один алель молекулярного маркера MA0045, MA0062, MA0070, MA0071, необов'язково MA0063 і MA0064, що відрізняється тим, що

- MA0045 являє собою SNP, який являє собою А у положенні, що відповідає положенню 156,789,751 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4;

- MA0062 являє собою SNP, який являє собою G у положенні, що відповідає положенню 156,772,431 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4;

- MA0063 являє собою SNP, який являє собою Т у положенні, що відповідає положенню 156,543,061 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4;

- MA0070 являє собою SNP, який являє собою Т у положенні, що відповідає положенню 156,694,565 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4;

- MA0071 являє собою SNP, який являє собою С у положенні, що відповідає положенню 156,694,641 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4;

- MA0064 являє собою SNP, який являє собою С у положенні, що відповідає положенню 156,541,890 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4; та необов'язково

- MA0021, який являє собою SNP, який являє собою G у положенні, що відповідає положенню 156,535,845 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4; і/або

- MA0035, який являє собою SNP, який являє собою А у положенні, що відповідає положенню 156,542,253 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4.

97. Рослина кукурудзи або частина рослини, що містить будь-які щонайменше два алелі молекулярного маркера MA0045, MA0062, MA0063 та MA0064, при цьому

- MA0045 являє собою SNP, який являє собою А у положенні, що відповідає положенню 156,789,751 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4;

- MA0062 являє собою SNP, який являє собою G у положенні, що відповідає положенню 156,772,431 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4;

- MA0063 являє собою SNP, який являє собою Т у положенні, що відповідає положенню 156,543,061 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4;

- MA0070 являє собою SNP, який являє собою Т у положенні, що відповідає положенню 156,694,565 п.о.

хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4;

- MA0071 являє собою SNP, який являє собою С у положенні, що відповідає положенню 156,694,641 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4;

- MA0064 являє собою SNP, який являє собою С у положенні, що відповідає положенню 156,541,890 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4.

98. Рослина або частина рослини кукурудзи, що містить будь-які щонайменше три, переважно будь-які щонайменше чотири, переважно будь-які щонайменше п'ять, найбільш переважно всі алелі молекулярних маркерів MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071 та MA0064, при цьому

- MA0045 являє собою SNP, який являє собою А у положенні, що відповідає положенню 156,789,751 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4;

- MA0062 являє собою SNP, який являє собою G у положенні, що відповідає положенню 156,772,431 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4;

- MA0063 являє собою SNP, який являє собою Т у положенні, що відповідає положенню 156,543,061 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4;

- MA0070 являє собою SNP, який являє собою Т у положенні, що відповідає положенню 156,694,565 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4;

- MA0071 являє собою SNP, який являє собою С у положенні, що відповідає положенню 156,694,641 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4;

- MA0064 являє собою SNP, який являє собою С у положенні, що відповідає положенню 156,541,890 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4.

99. Рослина кукурудзи або частина рослини, що містить алелі молекулярних маркерів MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071 та MA0064, при цьому

- MA0045 являє собою SNP, який являє собою А у положенні, що відповідає положенню 156,789,751 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4;

- MA0062 являє собою SNP, який являє собою G у положенні, що відповідає положенню 156,772,431 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4;

- MA0063 являє собою SNP, який являє собою Т у положенні, що відповідає положенню 156,543,061 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4;

- MA0070 являє собою SNP, який являє собою Т у положенні, що відповідає положенню 156,694,565 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4;

- MA0071 являє собою SNP, який являє собою С у положенні, що відповідає положенню 156,694,641 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4;

- MA0064 являє собою SNP, який являє собою С у положенні, що відповідає положенню 156,541,890 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4.

100. Рослина кукурудзи або частина рослини за будь-яким із тверджень 96-99, додатково містить алель молекулярного маркера PZE-108095339, при цьому PZE-108095339 являє собою SNP, який являє собою G в положенні, що відповідає положенню 156,378,424 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4.

101. Рослина кукурудзи або частина рослини за будь-яким із тверджень 96-100, що додатково містить алель молекулярного маркера Affx-91328160, при цьому, Affx-91328160 являє собою SNP, який являє собою G в положенні, що відповідає положенню 156,372,823 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4.

102. Рослина кукурудзи або частина рослини за будь-яким із тверджень 96-101, при цьому згадана рослина або частина рослини не містить (HT2 або HT3) алель молекулярного маркера PZE-108092843 і/або PZA-003182005, при цьому

- PZE-108092843, який являє собою SNP, який являє собою С у положенні, що відповідає положенню 154,456,106 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4;

- PZA-003182005, який являє собою SNP, який являє собою А у положенні, що відповідає положенню 158,167,578 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4.

103. Рослина кукурудзи або частина рослини за будь-яким із тверджень 96-102, при цьому згадана рослина або частина рослини не містить (HT2 або HT3) алель молекулярного маркера PZE-108094590 і/або PZA-108096610, при цьому

- PZE-108094590, який являє собою SNP, який являє собою G у положенні, що відповідає положенню 155,860,812 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4;

- PZE-108096610 являє собою SNP, який являє собою G у положенні, що відповідає положенню 157,375,673 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4.

104. Рослина кукурудзи або частина рослини за будь-яким із тверджень 96-103, при цьому згадана рослина або частина рослини не містить (HT2 або HT3) алель молекулярного маркера PZE-108094590 і/або PZA-108096469, при цьому

- PZE-108094590, який являє собою SNP, який являє собою G у положенні, що відповідає положенню 155,860,812 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4;

- PZE-108096469 являє собою SNP, який являє собою G у положенні, що відповідає положенню 157,266,475 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4;

105. Рослина кукурудзи або частина рослини за будь-яким із тверджень 96-104, при цьому згадана рослина або частина рослини не містить (HT2 або HT3) алель молекулярного маркера MA0043 і/або MA0025, при цьому

- MA0043, який являє собою SNP, який являє собою А у положенні, що відповідає положенню 155,999,733 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4;

- MA0025 являє собою SNP, який являє собою G у положенні, що відповідає положенню 156,967,599 п.о. хромосоми 8 В73 еталонного геному AGPv4;

106. Рослина кукурудзи або частина рослини за будь-яким із тверджень 94-105, яка є трансгенною, з

редагованими генами або піддана мутагенезу.

107. Спосіб ідентифікації рослини кукурудзи або частини рослини, що містить:

- схрещування першої рослини кукурудзи за будь-яким із тверджень 94-106 з другою рослиною кукурудзи
- ідентифікація потомства рослини кукурудзи або частини рослини за допомогою способу за будь-яким із тверджень 1-41.

108. Спосіб боротьби із зараженістю патогеном рослини кукурудзи (популяції), що містить

а) Надання (а) рослини (рослин) кукурудзи за будь-яким із тверджень 94-106 або вирощування з насіння (а) рослини (рослин) кукурудзи за будь-яким із тверджень 94-106,

б) Культивування рослини (рослин) за пунктом а) за умов зараження патогеном.

109. Спосіб за твердженням 108, при цьому зараженість патогеном знижується.

110. Спосіб за твердженням 108 або 109, при цьому симптоми патогену зменшуються.

111. Спосіб за будь-яким із тверджень 108-110, при цьому згадані умови зараженості патогеном містять присутність патогену.

112. Спосіб за будь-яким із тверджень 108-111, при цьому згаданий патоген є грибом.

113. Спосіб за будь-яким з тверджень 108-112, при цьому згаданий патоген являє собою *Exserohilum* sp.

114. Спосіб за будь-яким з тверджень 108-113, при цьому згаданий патоген являє собою *Exserohilum turcicum*.

115. Спосіб за будь-яким з тверджень 108-114, при цьому згаданий патоген являє собою *Exserohilum turcicum*, що викликає NCLB.

116. Використання поліуклеїнової кислоти за будь-яким із тверджень 1-41 або 69-87 для генерування рослини кукурудзи або частини рослини.

117. Використання поліуклеїнової кислоти за твердженням 116 для генерування рослини кукурудзи, що має (підвищену) стійкість і/або толерантність до патогену, або для надання або підвищення стійкості і/або толерантності до патогену рослини кукурудзи або її частини.

118. Використання поліуклеїнової кислоти за будь-яким з тверджень 1-41 або 69-92 або пари праймерів за твердженням 93 для ідентифікації рослини кукурудзи або частини рослини.

119. Використання за твердженням 118 для ідентифікації рослини кукурудзи або частини рослини, що має (підвищену) стійкість і/або толерантність до патогену.

120. Використання рослини кукурудзи за будь-яким із тверджень 94-106 для боротьби із зараженістю патогенами рослини кукурудзи (популяції).

121. Використання рослини кукурудзи за будь-яким із тверджень 94-106 для збільшення врожайності (потенціалу) рослини, переважно в умовах зараженості патогеном.

122. Використання за твердженням 121, при цьому врожайність являє собою біомасу або врожайність насіння.

123. Використання за твердженням 122, при цьому згадана біомаса являє собою біомасу цілої рослини або біомасу частини рослини.

124. Використання за твердженням 123, при цьому згадана частина рослини являє собою тканину, орган, плід або насіння.

125. Використання за будь-яким із тверджень 116-124, при цьому згадана рослина кукурудзи або частина рослини має (підвищену) стійкість до NCLB.

126. Використання за будь-яким із тверджень 116-125, при цьому згадана рослина кукурудзи або частина рослини має (підвищену) стійкість до *Exserohilum* sp.

127. Використання за будь-яким із тверджень 116-126, при цьому згадана рослина кукурудзи або частина рослини має (підвищену) стійкість до *Exserohilum turcicum*.

128. Використання за будь-яким із тверджень 116-127, при цьому згадана рослина кукурудзи або частина рослини має (підвищену) стійкість до *Exserohilum turcicum*, що викликає NCLB.

129. (Виділений) поліуклеотид за будь-яким із тверджень 69-92, що містить, що складається по суті або складається з послідовності будь-якого з SEQ ID NO: 4-51 або їхніх фрагментів, переважно фрагментів, що містять щонайменше 15 найбільш 3' суміжних їхніх нуклеотидів, їхній комплемент чи зворотний комплімент.

130. (Виділений) поліуклеотид за будь-яким із тверджень 69-92, що містить, що складається по суті або складається з послідовності SEQ ID NO: 4-22 або їхніх фрагментів, переважно фрагментів, що містять щонайменше 15 найбільш 3' суміжних їхніх нуклеотидів, їхній комплемент чи зворотний комплімент.

131. (Виділений) поліуклеотид за будь-яким із тверджень 69-92, що містить, що складається по суті або складається з послідовності SEQ ID NO: 5 або 23, або їхніх фрагментів, переважно фрагментів, що містять щонайменше 15 найбільш 3' суміжних їхніх нуклеотидів, їхній комплемент чи зворотний комплімент.

132. (Виділений) поліуклеотид за будь-яким із тверджень 69-92, що містить, що складається по суті або складається з послідовності SEQ ID NO: 7 або 25 або їхніх фрагментів, переважно фрагментів, що містять щонайменше 15 найбільш 3' суміжних їхніх нуклеотидів, їхній комплемент чи зворотний комплімент.

133. (Виділений) поліуклеотид за будь-яким із тверджень 69-92, що містить, що складається по суті, або складається з послідовності SEQ ID NO: 8 або 26, або їхніх фрагментів, переважно фрагментів, що містять щонайменше 15 найбільш 3' суміжних їхніх нуклеотидів, їхній комплемент чи зворотний комплімент.

134. (Виділений) поліуклеотид за будь-яким із тверджень 69-92, що містить, що складається по суті або складається з послідовності SEQ ID NO: 10 або 28 або їхніх фрагментів, переважно фрагментів, що містять щонайменше 15 найбільш 3' суміжних їхніх нуклеотидів, їхній комплемент чи зворотний комплімент.

135. (Виділений) поліуклеотид за будь-яким із тверджень 69-92, що містить, що складається по суті або складається з послідовності SEQ ID NO: 11 або 29, або їхніх фрагментів, переважно фрагментів, що містять щонайменше 15 найбільш 3' суміжних їхніх нуклеотидів, їхній комплемент чи зворотний комплімент.

136. (Виділений) поліуклеотид за будь-яким із тверджень 69-92, що містить, що складається по суті, або складається з послідовності SEQ ID NO: 13 або 31 або їхніх фрагментів, переважно фрагментів, що містять

152. Набір праймерів за твердженням 93, що містить праймер, що містить, що складається по суті або складається з послідовності SEQ ID NO: 40 або 46, і праймера, що містить, що складається по суті або складається з послідовності SEQ ID NO: 41 або 47, переважно SEQ ID NO: 40 і 41 або SEQ ID NO: 46 і 47, не обов'язково додатково що містить праймер, що містить, що складається по суті або складається з послідовності

SEQ ID NO: 42; або їхніх фрагментів, переважно фрагментів, що містять щонайменше 15 найбільш 3' суміжних їхніх нуклеотидів, їхній комплемент або зворотний комплемент.

153. Набір праймерів за твердженням 93, що містить праймер, що містить, що складається по суті або складається з послідовності SEQ ID NO: 43 або 49, і праймера, що містить, що складається по суті або складається з послідовності SEQ ID NO: 44 або 50, переважно SEQ ID NO: 43 і 44 або SEQ ID NO: 49 і 50, не обов'язково додатково що містить праймер, що містить, що складається по суті або складається з послідовності SEQ ID NO: 45; або їхніх фрагментів, переважно фрагментів, що містять щонайменше 15 найбільш 3' суміжних їхніх нуклеотидів, їхній комплемент або зворотний комплемент.

154. (Виділений) полінуклеотид за будь-яким із тверджень 69-92, що містить, що складається по суті або складається з послідовності будь-якого SEQ ID NO: 52-59 або їхніх (унікальних) фрагментів, переважно щонайменше з 15, більш переважно щонайменше з 18 суміжних нуклеотидів, їхнього комплементу або зворотного комплементу, або фрагмента.

155. Виділений полінуклеотид за твердженням 154, що містить щонайменше

- R у положенні 21 SEQ ID NO: 52, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотиду;

- R у положенні 21 SEQ ID NO: 53, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотиду;

- Y у положенні 21 SEQ ID NO: 54, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотиду;

- Y у положенні 21 SEQ ID NO: 55, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотиду;

- K у положенні 21 SEQ ID NO: 56, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотиду;

- M у положенні 21 SEQ ID NO: 57, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотиду;

- K у положенні 31 SEQ ID NO: 58, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотиду; або

- Y у положенні 31 SEQ ID NO: 59, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотиду.

156. (Виділений) полінуклеотид, що містить, що складається по суті, що складається або складається з послідовності будь-якого SEQ ID NO: 52-59, або його (унікального) фрагмента, переважно щонайменше з 15, більш переважно щонайменше з 18 суміжних нуклеотидів, їхнього комплементу або зворотного комплементу.

157. Виділений полінуклеотид за твердженням 156, що містить щонайменше

- R у положенні 21 SEQ ID NO: 52, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотиду;

- R у положенні 21 SEQ ID NO: 53, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотиду;

- Y у положенні 21 SEQ ID NO: 54, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотиду;

- Y у положенні 21 SEQ ID NO: 55, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотиду;

- K у положенні 21 SEQ ID NO: 56, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотиду;

- M у положенні 21 SEQ ID NO: 57, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотиду;

- K у положенні 31 SEQ ID NO: 58, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотиду; або

- Y у положенні 31 SEQ ID NO: 59, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотиду.

КОРОТКИЙ ОПИС ФІГУР

Фігура 1: Фізична карта положень маркерів з посиланням на положення маркерів AGPv04.

ДЕТАЛЬНИЙ ОПИС ВИНАХОДУ

Перш ніж описувати цю систему і спосіб цього винаходу, слід розуміти, що цей винахід не обмежується конкретними описаними системами і способами або комбінаціями, оскільки такі системи, способи і комбінації можуть, звичайно, варіюватися. Також слід розуміти, що термінологія, яка використовується в цьому документі, не є обмежувальною, оскільки обсяг цього винаходу буде обмежений тільки доданою формулою винаходу.

Використовувані в цьому документі форми однини включають як однину, так і множину, якщо з контексту явно не випливає інше.

Терміни "що містить", "містить" і "що складається з", використовувані в цьому документі, є синонімами "що включає", "включає" або "що містить", "містить", і є всеосяжними або не обмежувальними і не виключають додаткових, не перерахованих членів, елементів або етапів способу. Слід розуміти, що терміни "що містить", "містить" і "складається з", використовувані в цьому документі, містять терміни "що складається з", "складається" і "складається з", а також терміни "що складається по суті з", "складається по суті" і "складається по суті з".

Перерахування числових діапазонів кінцевих точок включає всі числа і дробі, включені у відповідні діапазони, а також перераховані кінцеві точки.

Термін "приблизно" або "приблизно", який використовується в цьому документі, якщо він стосується вимірюваного значення, такого як параметр, величина, тривалість за часом і т. ін., призначений для охоплення варіацій +/-20 % або менше, переважно +/-10 % або менше, більш переважно +/-5 % або менше і ще більш

переважно +/-1 % або менше від зазначеного значення, оскільки такі варіації доречні для здійснення в розкритому винаході. Слід розуміти, що значення, якого стосується модифікатор "примірно" або "приблизно", саме по собі також конкретно і переважно розкрито.

Беручи до уваги, що термін "щонайменше один", такий як, щонайменше один член групи членів, зрозумілий per se, за допомогою подальшого пояснення, термін охоплює, серед іншого, посилання на будь-який зі згаданих членів, або на будь-які, щонайменше на два зі згаданих члена, таких як, наприклад, будь-який ≥ 3 , ≥ 4 , ≥ 5 , ≥ 6 або ≥ 7 тощо зі згаданих членів, і аж до всіх згаданих членів.

Всі посилання, наведені в цьому описі, цим включені за допомогою посилання в повному обсязі. Зокрема, ідеї всіх посилань, на які конкретно посилаються в цьому документі, включені за допомогою посилання.

Якщо не визначено інше, всі терміни, які використовуються при розкритті цього винаходу, включно з технічними та науковими термінами, мають значення, яке зазвичай зрозуміло фахівцеві середньої кваліфікації в цій галузі техніки, якої стосується цей винахід. Як додаткове роз'яснення, включені визначення термінів для кращого розуміння суті цього винаходу.

Авторитетні довідники, що викладають загальні принципи технології рекомбінантної ДНК, включають молекулярне клонування: [Лабораторний посібник, 2-е вид., т. 1-3, вид. Сэмбрук і співавт., Laboratory Press, Колд-Спрінг-Харбор, Нью-Йорк, 1989; Поточні протоколи в молекулярній біології, вид. Осубель і співавт., Green Publishing and Wiley-Interscience, Нью-Йорк, 1992 (з періодичними оновленнями) ("Осубель і співавт. 1992"); серія "Методи в ензимології" (Academic Press, Inc.); Інніс і співавт., Протоколи ПЛР: Посібник з методів і практичний посібник, Academic Press: Сан-Дієго, 1990; ПЛР 2: практичний підхід (під ред. М.Дж. Макферсона, Б.Д. Хеймса і Г. Р. Тейлора (1995); під ред. Харлоу і Лейна (1988) Антитіла, Лабораторний посібник; і Культура клітин тварин (Р. І. Фрешні, вид. (1987). Загальні принципи мікробіології викладені, наприклад, в роботі Девіс Б.Д. і співавт., Microbiology, 3-е видання, Harper & Row, publishers, Філадельфія, Пенсільванія (1980)].

У наступних уривках різні аспекти цього винаходу визначені більш докладно. Кожен аспект, визначений таким чином, може бути об'єднаний з будь-яким іншим аспектом або аспектами, якщо явно не зазначено зворотне. Зокрема, будь-яка ознака, зазначена як краща, або що має перевагу, може бути об'єднана з будь-якою іншою ознакою або ознаками, зазначеними як кращі або що мають перевагу.

Посилання у всьому цьому описі на "один варіант здійснення цього винаходу" або "варіант здійснення цього винаходу" означає, що конкретна ознака, структура або характеристика, описані в зв'язку з цим варіантом здійснення цього винаходу, включена щонайменше в один варіант здійснення цього винаходу. Отже, фрази "в одному варіанті здійснення цього винаходу" або "у варіанті здійснення цього винаходу" в різних місцях всього цього опису необов'язково всі стосуються одного і того ж варіанту здійснення цього винаходу, але можуть. Крім того, конкретні ознаки, структури або характеристики можуть бути об'єднані будь-яким придатним чином, як це було б очевидно фахівцеві в цій галузі техніки з цього винаходу, щонайменше в одному або декількох варіантах здійснення цього винаходу. Крім того, в той час як деякі варіанти здійснення цього винаходу, описані в цьому документі, включають деякі, але не інші ознаки, включені в інші варіанти здійснення цього винаходу, мається на увазі, що комбінації ознак різних варіантів здійснення цього винаходу входять в обсяг цього винаходу і утворюють різні варіанти його здійснення, як це було б зрозуміло фахівцям в цій галузі техніки. Наприклад, в доданій формулі винаходу будь-який із заявлених варіантів здійснення цього винаходу може бути використаний в будь-якій комбінації.

У наступному докладному описі цього винаходу наводиться посилання на супровідні креслення, які є частиною цього документа, і на яких показані як ілюстрації тільки конкретні варіанти здійснення, в яких цей винахід може бути реалізований. Слід розуміти, що можуть бути використані й інші варіанти здійснення цього винаходу, і можуть бути внесені структурні або логічні зміни, не виходячи за рамки цього винаходу. Отже, наступний докладний опис не слід сприймати в обмежувальному сенсі, і обсяг цього винаходу визначається доданою формулою винаходу.

Кращі твердження (ознаки) і варіанти здійснення цього винаходу викладені в цьому документі нижче. Кожне твердження і варіанти здійснення цього винаходу, визначені таким чином, можуть бути об'єднані з будь-яким іншим твердженням і/або варіантами здійснення, якщо явно не зазначено зворотне. Зокрема, будь-яка ознака, зазначена як краща або що має перевагу, може бути об'єднана з будь-якою іншою ознакою або ознаками, або твердженнями, зазначеними як кращі або що мають перевагу.

В одному аспекті, цей винахід стосується способу ідентифікації рослини кукурудзи або частини рослини, що містить скринінг на присутність або виявлення, або ідентифікацію полінуклеїнової кислоти, що містить будь-який щонайменше один, щонайменше два, щонайменше три, або всі молекулярні маркери, або (HT2/HT3) алелі молекулярних маркерів, обраних з MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071 та MA0064, необов'язково додатковий молекулярний маркер (алель) PZE-108095339 і/або Affx-91328160. Конкретні відповідні комбінації маркерних алелів описані в цьому документі в іншому місці.

В одному аспекті, цей винахід стосується способу ідентифікації рослини кукурудзи або частини рослини, що містить скринінг на присутність або виявлення, або ідентифікацію будь-якого щонайменше одного, щонайменше двох, щонайменше трьох, або всіх молекулярних маркерів, або (HT2/HT3) алелів молекулярних маркерів, обраних з MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071 та MA0064, необов'язково додаткового молекулярного маркера (алеля) PZE-108095339 і/або Affx-91328160. Конкретні відповідні комбінації маркерних алелів описані в цьому документі в іншому місці.

Комбінація будь-якого щонайменше одного вищезгаданого маркера (маркерів) (алеля (алелів)) може бути позначена як маркерний гаплотип за цим винаходом.

Способи можуть містити скринінг зразка, отриманого з рослини кукурудзи або частини рослини, зокрема зразка, що містить геномну ДНК рослини кукурудзи або частини рослини. Відповідно, спосіб може містити етап отримання зразка (що містить геномну ДНК) з рослини кукурудзи або частини рослини, або надання зразка (що містить геномну ДНК), отриманого з рослини кукурудзи або частини рослини. Способи скринінгу або ідентифікації

маркерів добре відомі в цій галузі техніки, як також описано в цьому документі в іншому місці.

Молекулярний маркер (маркери) (алель (алелі)) присутній у локусах HT2 та HT3 і розташований на хромосомі 8 *Zea mays*. Локус містить геномний інтервал, що варіюється від молекулярного маркера (алелю) PZE-108092843 до PZA-003182005. У той час, як локус може містити більший фрагмент геному, маркери PZE-108092843-PZA-003182005 визначають відповідний менший фрагмент, відповідальний за стійкість до *Exserohilum turcicum*. Відповідно, полінуклеїнова кислота, що описана в цьому документі згідно з цим винаходом, у певних варіантах здійснення відповідає (тобто, має послідовність) інтервалу хромосоми 8 *Zea mays*, фланкованому (і що включає або альтернативно виключає) молекулярним маркером (алелем) PZE-108092843 та PZA-003182005. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота, що описана в цьому документі згідно з цим винаходом, відповідає (тобто, має послідовність) інтервалу хромосоми 8 *Zea mays*, фланкованому (і що включає або альтернативно виключає) молекулярним маркером (алелем) PZE-108094590 та PZE-108096610. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота, що описана в цьому документі згідно з цим винаходом, відповідає (тобто, має послідовність) інтервалу хромосоми 8 *Zea mays*, фланкованому (і що включає або альтернативно виключає) молекулярним маркером (алелем) PZE-108094590 та PZE-108096469. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота, що описана в цьому документі згідно з цим винаходом, відповідає (тобто, має послідовність) інтервалу хромосоми 8 *Zea mays*, фланкованому (і що включає або альтернативно виключає) молекулярним маркером (алелем) PZE-108092843, PZE-108094590 або MA0043 і молекулярним маркером (алелем) PZA-003182005, PZE-108096610, PZE-108096469 або MA0025. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота, що описана в цьому документі згідно з цим винаходом, відповідає (тобто, має послідовність) інтервалу хромосоми 8 *Zea mays*, фланкованому (і що включає або альтернативно виключає) молекулярним маркером (алелем) PZE-108092843 та PZE-108096610. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота, що описана в цьому документі згідно з цим винаходом, відповідає (тобто, має послідовність) інтервалу хромосоми 8 *Zea mays*, фланкованому (і що включає або альтернативно виключає) молекулярним маркером (алелем) PZE-108092843 та PZE-108096469. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота, що описана в цьому документі згідно з цим винаходом, відповідає (тобто, має послідовність) інтервалу хромосоми 8 *Zea mays*, фланкованому (і що включає або альтернативно виключає) молекулярним маркером (алелем) PZE-108092843 та MA0025. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота, що описана в цьому документі згідно з цим винаходом, відповідає (тобто, має послідовність) інтервалу хромосоми 8 *Zea mays*, фланкованому (і що включає або альтернативно виключає) молекулярним маркером (алелем) PZE-108094590 та PZA-003182005. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота, що описана в цьому документі згідно з цим винаходом, відповідає (тобто, має послідовність) інтервалу хромосоми 8 *Zea mays*, фланкованому (і що включає або альтернативно виключає) молекулярним маркером (алелем) PZE-108094590 та MA0025. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота, що описана в цьому документі згідно з цим винаходом, відповідає (тобто, має послідовність) інтервалу хромосоми 8 *Zea mays*, фланкованому (і що включає або альтернативно виключає) молекулярним маркером (алелем) MA0043 та PZA-003182005. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота, що описана в цьому документі згідно з цим винаходом, відповідає (тобто, має послідовність) інтервалу хромосоми 8 *Zea mays*, фланкованому (і що включає або альтернативно виключає) молекулярним маркером (алелем) PZE-108092843 та PZE-108096610. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота, що описана в цьому документі згідно з цим винаходом, відповідає (тобто, має послідовність) інтервалу хромосоми 8 *Zea mays*, фланкованому (і що включає або альтернативно виключає) молекулярним маркером (алелем) MA0043 та PZE-108096469. Відповідні полінуклеїнові кислоти згідно з цим винаходом (або рослини кукурудзи, або частини рослини згідно з цим винаходом) можуть бути ідентифіковані, наприклад, за присутністю щонайменше одного (HT2 або HT3) маркера (алелю) MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071 та MA0064, та необов'язково молекулярного маркера (алелю) PZE-108095339 і/або Affx-91328160, та відсутності щонайменше одного (HT2 або HT3) молекулярного маркера (алелю) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 і MA0025.

Молекулярний маркер (маркери) (алель (алелі)) цього винаходу може бути переважно використаний для ідентифікації рослин кукурудзи або частин рослин, зокрема, рослин кукурудзи або частини рослини, що мають стійкість або толерантність, або мають підвищену стійкість або толерантність до патогенів, зокрема до грибкових патогенів, таких як *Exserohilum turcicum*.

Молекулярний маркер (маркери) (алель (алелі)) цього винаходу може бути переважно використаний для ідентифікації рослин кукурудзи або частин рослин, що містять локус HT2, а також локус HT3, і, зокрема, алель HT2/HT3 RLK1. Алель HT2 та HT3 RLK1, наприклад, описаний у [WO2019/038326], який включений в цей документ за допомогою посилання повністю.

Кожен з цих діагностичних маркерів може бути використаний для відстеження малої донорної інтрогресії HT2 або HT3 у процесі селекції, оскільки кожен маркер є діагностичним та тісно зчеплений з геном-збудником, що надає стійкості HT2/HT3. Молекулярний маркер (маркери) (алель (алелі)) цього винаходу тісно зчеплений з геном RLK1 локусу HT2 і локусу HT3 і, отже, може бути переважно використаний для ідентифікації рослин кукурудзи або частин рослин, що містять мінімальний фрагмент алелю HT2/HT3 RLK1, при цьому рослина кукурудзи або частина рослини не містить потенційно шкідливих фланкуючих послідовностей, які негативно впливають на агрономічно значущі характеристики, такі як, наприклад, потенціал врожайності. Отже, молекулярний маркер (маркери) (алель (алелі)) цього винаходу підходять для селекції з використанням маркерів, зокрема, для того, щоб уникнути або звести до мінімуму зчеплений вантаж. Маркери забезпечують ефективнішу інтрогресію,

оскільки можна легко виявити дуже сприятливу рекомбінацію. Дійсно, для активного відбору проти зчепленого вантажу, придатні маркери мають знаходитися в безпосередній близькості від ознаки, що цікавить, щоб можна було адекватно відстежувати рекомбінацію між ознакою, що цікавить (наприклад, стійкість до патогену), і її фланкуючими областями.

З [WO2015/032494] (включеного в цей документ за допомогою посилання повністю), в якому досліджувалися і використовувалися лінії інтрогресії з Htn1 з Repitilla (з яких геном-збудником також є RLK1), відомо, що цей локус стійкості тісно зчеплений з геномними областями, що несуть зчеплений вантаж, що призводить до негативного впливу щонайменше на одну агрономічну ознаку. Перше дослідження фланкуючої області HT2 (або HT3) показало, що цей або подібний зчеплений вантаж присутній не тільки у донора Repitilla для інтрогресії Htn1, але і в інших донорів для цього локусу стійкості до *Helminthosporium*, як-от A619. Крім іншого, зчеплений вантаж, як частина інтрогресії HT2 (або HT3), може вплинути на різницю в часі цвітіння, що є важливою агрономічною характеристикою. Це може безпосередньо і суттєво вплинути на потенціал врожайності рослини *Zea mays*. Затримка цвітіння зазвичай призводить до зниження врожайності. Крім того, зчеплений вантаж, що негативно впливає на потенціал врожайності, зокрема, на потенціал виходу силосу, може бути виявлений дистально і/або проксимально від локусу стійкості до *Helminthosporium* на парі основ 8.06 в *Zea mays*. Фланкуючі області, які тісно зчеплені з цим локусом стійкості, можуть бути носіями відомого зчепленого вантажу. Молекулярний маркер (маркери) (алель (алелі)) цього винаходу фланкує мінімальну область локусу HT2 або HT3, що містить ген RLK1, і може бути відповідним чином використаний для цілей відбору, а також для визначення мінімального локусу HT2 і/або HT3 для генерування рослин кукурудзи або частин рослини, в якій запобігає або зводиться до мінімуму зчеплений вантаж. Як приклад, видалення зчепленого вантажу може бути здійснено шляхом генетичної рекомбінації під час процесу схрещування між двома рослинами кукурудзи, при цьому одна батьківська рослина кукурудзи несе локус стійкості HT2 або локус стійкості HT3. На додаток до використання традиційних методів селекції для отримання генетичної рекомбінації, результатом якої є заміна щонайменше одного з донорних інтервалів на ідентифікований вище зчеплений вантаж з геномними послідовностями рекурентного батька, які переважно не містять небажаних генів, сучасна біотехнологія пропонує фахівцю в цій галузі техніки безліч інструментів, що дозволяють проводити точну генну інженерію. Прикладами відомих інструментів є мегануклеази [Сільва і співавт., 2011], хоумінг-ендонуклеази [Шевальєр, 2002], цинк-пальцеві нуклеази, нуклеази TALE [WO 2010/079430; WO 2011/072246] або системи CRISPR [Гай і співавт., 2013].

На додаток до вищезгаданої переваги тісного зчеплення з RLK1, процес скринінгу молекулярного маркера (маркерів) (алелю (алелів)) цього винаходу на підвищену стійкість до Гельмінтоспоріозної плямистості листя кукурудзи (NCLB) тепер спрощений, і генетичний матеріал може бути підданий скринінгу HT2 або HT3 та інтрогресований з малим донорним сегментом у матеріал за допомогою відбору за допомогою маркера (MAS). Молекулярний маркер (маркери) (алель (алелі)) цього винаходу забезпечує надійну процедуру відбору завдяки їхній відповідній унікальності та здатності розрізняти алелі стійкості та нестійкості.

Розташування молекулярного маркера (маркерів) (алелю (алелів)), описаного в цьому документі, представлено в Таблиці нижче з посиланням на хромосому 8 AGPv04 B73 еталонного геному *Zea mays*. (https://www.maizegdb.org/genome/genome_assembly/Zm-B73-REFERENCE-GRAMENE-4.0).

AGPv04 використовується в цьому документі взаємозамінно з AGPv4, який також називають "Кукурудза B73 RefGen_v4". Всі маркери являють собою SNP. Також вказується нуклеотид, присутній в алелі HT2 і HT3 (тобто, алелі, що надає стійкість), а також можливий нуклеотид альтернативного алелю, відмінного від HT2/HT3 (тобто алелю, що не надає стійкість). Слід розуміти, що описані в цьому документі способи ідентифікації рослини кукурудзи, що має (підвищену) стійкість або толерантність до патогену, такого як *Helminthosporium turcicum*, включають ідентифікацію алелів молекулярних маркерів HT2 або HT3.

Таблиця: огляд маркерів HT2/HT3 на фрагменті інтрогресії. Стовець "Праймер HT2/HT3" показує алель HT2/HT3 (тобто, донорний алель), який викликається відповідним праймером KASP. "Альтернативний алель" забезпечує алелі (SNP) у джерелах, відмінних від HT2/HT3. Стовець "Альтернативний праймер" показує альтернативний алель (тобто, акцепторний алель або відмінний від HT2/HT3), який викликається відповідним праймером KASP. Слід зазначити, що викликаний алель може бути розташований на зворотному (тобто, протилежному/комплементарному ланцюгу) ланцюгу геномної ДНК, доступному в базі даних (тобто, AGPv04; https://www.maizegdb.org/genome/genome_assembly/Zm-B73-REFERENCE-GRAMENE-4.0). Наприклад, у певних варіантах здійснення цього винаходу, наприклад, для маркера Affx-91328160, "Альтернативний" праймер для виявлення альтернативного алелю (переважно алель-специфічний праймер, такий як праймер KASP) сконструйований так, щоб містити нуклеотид "Т", що відповідає положенню 156372823, і, отже, пов'язувати (т. бути комплементарним) ланцюг відповідної геномної ДНК, як зазначено в еталонному геномі AGPv04, що містить нуклеотид "А". Аналогічним чином, праймер "HT2/HT3" для виявлення донорного алелю (переважно алель-специфічний праймер, такий як праймер KASP) сконструйований так, щоб містити нуклеотид "С", що відповідає положенню 156372823, і, отже, зв'язувати (т. бути комплементарним) ланцюг відповідної геномної ДНК, як зазначено в еталонному геномі AGPv04, що містить нуклеотид "G". З іншого боку, наприклад, для маркера PZE-108095339, "Альтернативний" праймер для виявлення альтернативного алелю (переважно алель-специфічний праймер, такий як праймер KASP) сконструйований так, щоб містити нуклеотид "А", відповідний положенню 156378424, і, отже, пов'язувати (тобто бути комплементарним) комплемент ланцюга відповідної геномної ДНК (тобто протилежного ланцюга), як зазначено в еталонному геномі AGPv04, що містить нуклеотид "Т" (у протилежному ланцюгу). Аналогічним чином, праймер "HT2/HT3" для виявлення донорного алелю (переважно алель-специфічний праймер, такий як праймер KASP) сконструйований так, щоб містити нуклеотид "G", що відповідає положенню 156378424, і, отже, зв'язувати (т. бути комплементарним) комплемент ланцюга відповідної геномної ДНК, як зазначено в еталонному геномі AGPv04, що містить нуклеотид "С" (у протилежному ланцюгу).

Назва маркера	Положення	HT2/HT3-алель	HT2/HT3-	Альтернативний	Альтернативний
---------------	-----------	---------------	----------	----------------	----------------

	AGPv04		праймер	алель	праймер
PZE-108092843	154456106	C	C	A	A
PZE-108094590	155860812	G	G	A	A
MA0043	155999733	A	T	G	C
Affx-91328160	156372823	G	G	A	A
PZE-108095325	156374083	G	G	A	A
PZE-108095339	156378424	G	C	A	T
MA0021	156535845	G	G	C	C
MA0064	156541890	C	C	T	T
MA0035	156542253	A	T	G	C
MA0063	156543061	T	A	C	G
MA0070	156694565	T	T	G	G
MA0071	156694641	C	G	T	A
MA0062	156772431	G	G	T	T
MA0045	156789751	A	A	C	C
MA0025	156967599	G	G	A	A
PZE-108096469	157266475	G	C	A	T
PZE-108096610	157375673	G	C	A	
PZA-003182005	158167578	A	A	G	

Слід розуміти, що зазначені положення нуклеотидів є положеннями нуклеотидів зазначених положень хромосоми 8 AGPv04 B73, і що положення маркерів у рослинах кукурудзи за цим винаходом відповідають зазначеним положенням маркерів, але є або містять не обов'язково ідентичні положення в іншому геномі (наприклад, в іншій расі або лінії). Фахівцю в цій галузі техніки буде зрозуміло, що відповідні положення нуклеотидів можуть бути визначені шляхом відповідного вирівнювання, як відомо у цій галузі техніки.

У певних варіантах здійснення цей винахід стосується способу ідентифікації рослини кукурудзи або частини рослини, як-от рослина кукурудзи або частина рослини, що має (підвищену) стійкість до патогену, як описано в цьому документі в іншому місці, що містить скринінг на присутність або ідентифікацію, або виявлення щонайменше одного молекулярного маркера (алелю), як описано в цьому документі в іншому місці, при цьому рослина або частина рослини ідентифікована (як така, що має підвищену стійкість до патогену), якщо ідентифікований або виявлений щонайменше один з наступних маркерних алелів:

- MA0045, який являє собою SNP, який являє собою A у положенні, що відповідає положенню 156,789,751 п.о. хромосоми 8 B73 еталонного геному AGPv4;

- MA0062, який являє собою SNP, який являє собою G у положенні, що відповідає положенню 156,772,431 п.о. хромосоми 8 B73 еталонного геному AGPv4;

- MA0063, який являє собою SNP, який являє собою T у положенні, що відповідає положенню 156,543,061 п.о. хромосоми 8 B73 еталонного геному AGPv4;

- MA0070, який являє собою SNP, який являє собою T у положенні, що відповідає положенню 156,694,565 п.о. хромосоми 8 B73 еталонного геному AGPv4;

- MA0071, який являє собою SNP, який являє собою C у положенні, що відповідає положенню 156,694,641 п.о. хромосоми 8 B73 еталонного геному AGPv4;

- MA0064, який являє собою SNP, який являє собою C у положенні, що відповідає положенню 156,541,890 п.о. хромосоми 8 B73 еталонного геному AGPv4; та необов'язково

- Affx-91328160, який являє собою SNP, який являє собою G у положенні, що відповідає положенню 156,372,823 п.о. хромосоми 8 B73 еталонного геному AGPv4;

- PZE-108095339, який являє собою SNP, який являє собою G у положенні, що відповідає положенню 156,378,424 п.о. хромосоми 8 B73 еталонного геному AGPv4;

У певних варіантах здійснення цього винаходу рослина кукурудзи не має будь-якого щонайменше одного молекулярного маркера (алелю):

- PZE-108092843, який являє собою SNP, який являє собою C у положенні, що відповідає положенню 154,456,106 п.о. хромосоми 8 B73 еталонного геному AGPv4;

- PZE-108094590, який являє собою SNP, який являє собою G у положенні, що відповідає положенню 155,860,812 п.о. хромосоми 8 B73 еталонного геному AGPv4;

- MA0043, який являє собою SNP, який являє собою A у положенні, що відповідає положенню 155,999,733 п.о. хромосоми 8 B73 еталонного геному AGPv4;

- MA0025, який являє собою SNP, який являє собою G у положенні, що відповідає положенню 156,967,599 п.о. хромосоми 8 B73 еталонного геному AGPv4;

- PZE-108096469, який являє собою SNP, який являє собою G у положенні, що відповідає положенню 157,266,475 п.о. хромосоми 8 B73 еталонного геному AGPv4;

- PZE-108096610, який являє собою SNP, який являє собою G у положенні, що відповідає положенню 157,375,673 п.о. хромосоми 8 B73 еталонного геному AGPv4; або

- PZA-003182005, який являє собою SNP, який являє собою A у положенні, що відповідає положенню 158,167,578 п.о. хромосоми 8 B73 еталонного геному AGPv4.

Використовуваний у цьому документі термін "кукурудза" стосується рослини виду *Zea mays*, переважно *Zea mays ssp mays*.

Термін "рослина" включає цілі рослини, включно з їхніми нащадками або потомством. Використовуваний в цьому документі термін "рослина", якщо явно не зазначено інше, означає рослину на будь-якій стадії розвитку.

Термін "частина рослини" включає будь-яку частину або похідне рослини, включно з конкретними рослинними тканинами, або структури рослини, рослинні клітини, протопласт рослини, культуру рослинних клітин або тканин, з яких можуть бути регенеровані рослини, калюси рослини, маткові кореневіща рослини і рослинні клітини, які є інтактними в рослинах або частинах рослин, такі як насіння, ядра, качани, квітки, сім'ядолі, листя, стебла, бруньки, коріння, кореневі кінчики, стерня і т. ін. Частини рослини можуть включати оброблені частини рослини або похідні, включно з квіткою, маслами, екстрактами і т. ін. "Частини рослини" являють собою, наприклад, вегетативні органи/структури пагона, наприклад, листя, стебла і бульби; коріння, квітки і квіткові органи/структури, наприклад, приквітки, чашолистки, пелюстки, тичинки, плодолистки, пильовики і сім'ябруньки; насіння, включно з зародками, ендоспермом і насінневої оболонкою; плід і зрілу зав'язь; рослинну тканину, наприклад, судинну тканину, покривну тканину і т. ін.; і клітини, наприклад, захисні клітини, яйцеклітини, пилки, трихоми і т. ін.; і їхнє потомство. Частини рослин можуть бути прикріплені до цілої інтактною рослини або відокремлені від неї. Такі частини рослини включають, але цим не обмежуються, органи, тканини і клітини рослини і, переважно насіння. "Рослинна клітина" являє собою структурну і фізіологічну одиницю рослини, що містить протопласт і клітинну стінку. Рослинна клітина може бути у формі виділеної поодинокі клітини або культивованої клітини, або у вигляді частини більш високоорганізованої одиниці, як-от, наприклад, рослинна тканина, орган рослини або ціла рослина. "Культура рослинних клітин" означає культури рослинних одиниць, таких як, наприклад, протопласти, клітини в культурі клітин, клітини в рослинних тканинах, пилки, пилкові трубки, сім'ябруньки, зародкові мішки, зиготи і зародки на різних стадіях розвитку. "Рослинний матеріал" стосується листя, стебел, коріння, квіток або частин квіток, плодів, пилку, яйцеклітин, зигот, насіння, відводків, культур клітин або тканин, або будь-якої іншої частини або продукту рослини. Сюди також входять калюси або калюсна тканина, а також екстракти (такі як екстракти з стрижневих коренів) або зразки. "Орган рослини" являє собою окрему і візуально структуровану і диференційовану частину рослини, таку як корінь, стебло, лист, бутон або зародок. "Рослинна тканина", що використовується в цьому документі, означає групу рослинних клітин, організованих в структурну і функціональну одиницю. Включена будь-яка тканина рослини в *planta* або в культурі. Цей термін включає, але цим не обмежується, цілі рослини, органи рослин, насіння рослин, культуру тканин і будь-які групи рослинних клітин, організованих в структурні і/або функціональні одиниці. Застосування цього терміна в поєднанні або за відсутності будь-якого конкретного типу рослинної тканини, як зазначено вище, або іншим чином, охопленого цим визначенням, не передбачає виключення будь-якого іншого типу рослинної тканини.

У певних варіантах здійснення цього винаходу частина або похідна рослини є або містить (функціональний) матеріал для розмноження, такий як зародкова плазма, насіння або зародок рослини, або інший матеріал, з якого рослина може бути регенерована. У певних варіантах здійснення цього винаходу частина або похідна рослини не є (функціональним) матеріалом для розмноження, таким як зародкова плазма, насіння або зародок рослини, або інший матеріал, з якого рослина може бути регенерована. У певних варіантах здійснення цього винаходу, частина або похідне рослини не містить (функціональних) чоловічих і жіночих репродуктивних органів. У певних варіантах здійснення цього винаходу, частина чи похідне рослини є або містить матеріал для розмноження, але матеріал для розмноження, який не використовується або не може використовуватися (більше) для продукування або генерування нових рослин, такий як матеріал для розмноження, який був хімічно, механічно або іншим чином наведений в нефункціональний стан, наприклад, шляхом термічної обробки, кислотної обробки, ущільнення, подрібнення, дроблення і т. ін.

Використовуваний в цьому документі термін "популяція рослини" може використовуватися взаємозамінно з "популяцією рослин". Популяція рослин переважно містить безліч окремих рослин, наприклад, переважно щонайменше 10, наприклад, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 або 90, більш переважно щонайменше 100, наприклад, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800 або 900, ще більш переважно щонайменше 1000, наприклад, щонайменше 10000 або щонайменше 100000.

Використовуваний у цьому документі термін "HT2" стосується "стійкості до *Helminthosporium turcicum* 2", яка є локусом на хромосомі 8 *Zea mays*, відповідальним за стійкість до *Helminthosporium turcicum*. Ген-збудник, відповідальний за надання стійкості до *Helminthosporium turcicum*, який розташований у локусі HT2, є RLK1 (рецепторна тирозинкіназа 1), або WAK-RLK1 (пов'язана зі стінкою кіназу RLK1). Використовуваний у цьому документі термін "HT3" стосується "стійкості до *Helminthosporium turcicum* 3", яка є локусом на хромосомі 8 *Zea mays*, відповідальним за стійкість до *Helminthosporium turcicum*. Ген-збудник, відповідальний за надання стійкості до *Helminthosporium turcicum*, який розташований у локусі HT3, є RLK1 (рецепторна тирозинкіназа 1), або WAK-RLK1 (пов'язана зі стінкою кіназу RLK1). Алель RLK1, що надає стійкість до *Helminthosporium turcicum*, може містити послідовність гена, представлену в SEQ ID NO: 1, або може містити послідовність, що кодує послідовність, яка представлена в SEQ ID NO: 2, або може кодувати білок, що містить послідовність, представлену в SEQ ID NO: 3. Кодуюча послідовність RLK1 ідентична в алелях HT2 і HT3. Однак алелі HT2 і HT3 походять від різних генотипів/донорних ліній і розрізняються в декількох місцях за межами кодуєчої послідовності RLK1. У певних варіантах здійснення цього винаходу, ген, білок або кодуєча послідовність RLK1 має послідовність, яка відповідає послідовності гена, білка або кодуєчої послідовності RLK1 алелі HT2 або HT3.

Термін "локус" (у множині - локуси) означає конкретне місце або місця, або сайт на хромосомі, де, наприклад, виявлений QTL/гаплотип, ген або генетичний маркер. Використовуваний в цьому документі термін "локус кількісної ознаки" або "QTL" має своє звичайне значення, відоме в цій галузі техніки. За допомогою додаткових роз'яснень, і без обмежень, QTL може належати до області ДНК, яка асоційована з диференціальною експресією кількісної фенотипічної ознаки, щонайменше в одному генетичному тлі, наприклад, щонайменше в одній популяції, що розмножується. Область QTL охоплює або тісно зчеплена з геном або генами, які негативно впливають на розглянуту ознаку.

Використовуваний у цьому документі термін "алель" або "алелі" відноситься щонайменше до однієї альтернативної форми, тобто до іншої нуклеотидної послідовності, локусу.

"Алель локусу" може містити безліч генів або інших генетичних факторів у межах суміжної геномної області

або групи зчеплення, такої як гаплотип. Алель локусу може означати гаплотип в межах зазначеного вікна, при цьому, зазначене вікно являє собою суміжну геномну область, яка може бути визначена і відстежена за допомогою набору щонайменше одного поліморфного маркера. Гаплотип може бути визначений за унікальним відбитком алелів у кожному маркері в межах зазначеного вікна. Локус може кодувати щонайменше один алель, який негативно впливає на експресію безперервно розподіленого (кількісного) фенотипу. У певних варіантах здійснення цього винаходу, локус, алель, полінуклеїнова кислота або молекулярний маркер (алель), як описано в цьому документі, може бути гомозиготним. У певних варіантах здійснення локус, алель, полінуклеїнова кислота або молекулярний маркер (алель), як описано в цьому документі, може бути гетерозиготним.

Використовуваний в цьому документі термін "мутантні алелі" або "мутація" алелів включає алелі, що мають щонайменше одну мутацію, як-от інсерція, делеція, стоп-кодон, зміна основи (наприклад, транзиція або трансверсія) або зміна кордону сплайсингу, яка можуть призводити або не призводити до появи змінених генних продуктів. Модифікації алелів можуть виникати в кодуючих або некодуючих областях (наприклад, в промоторних областях, екзонах, інтронах або кордонах сплайсингу).

"Маркер" являє собою (засіб знаходження положення) генетичну або фізичну карту, або зчеплення між маркерами та локусами ознак (локусами, що негативно впливають на ознаки). Положення, яке виявляє маркер, може бути відоме за допомогою виявлення поліморфних алелів та їхнього генетичного картування, або шляхом гібридизації, зіставлення послідовностей або ампліфікації послідовності, яка була фізично картована. Маркер може являти собою ДНК-маркер (виявляє поліморфізми ДНК), білок (виявляє варіації в поліпептиді, що кодується) або просто успадкований фенотип (наприклад, "восковий" фенотип). ДНК-маркер може бути отриманий з геномної нуклеотидної послідовності або з нуклеотидних послідовностей, що експресуються (наприклад, із сплайсованої РНК або кДНК). Залежно від технології ДНК-маркера, маркер може складатися з комплементарних праймерів, фланкуючих локус, і/або комплементарних зондів, які гібридизуються з поліморфними алелями в локусі. Термін "маркерний локус" означає локус (ген, послідовність або нуклеотид), який виявляється маркером. "Маркер" або "молекулярний маркер", або "маркерний локус", може також використовуватися для позначення послідовності нуклеїнової кислоти або амінокислоти, яка є досить унікальною, щоб охарактеризувати конкретний локус на геномі. Будь-яка поліморфна ознака, що виявляється, може бути використана як маркер за умови, що вона успадковується диференційовано і виявляє нерівноважне зчеплення з фенотиповою ознакою, що цікавить.

Маркери, які виявляють генетичні поліморфізми між членами популяції, добре відомі в цій галузі техніки. Маркери можуть бути визначені за типом поліморфізму, який вони виявляють, а також за технологією маркування, що використовується для виявлення поліморфізму. Типи маркерів включають, але цим не обмежуються, наприклад, виявлення поліморфізмів довжин рестрикційних фрагментів (RFLP), виявлення ізоферментних маркерів, випадково ампліфікованої поліморфної ДНК (RAPD), поліморфізмів довжин ампліфікованих фрагментів (AFLP), виявлення простих повторюваних послідовностей (SSR), виявлення ампліфікованих варіабельних послідовностей генома рослин, виявлення самопідтримуваної реплікації послідовностей або виявлення одонуклеотидних поліморфізмів (SNP). SNP можуть бути виявлені, наприклад, за допомогою секвенування ДНК, методів специфічної ампліфікації послідовностей на основі ПЛР, виявлення полінуклеотидних поліморфізмів за допомогою алель-специфічної гібридизації (ASH), динамічної алель-специфічної гібридизації (DASH), молекулярних маяків, гібридизації на мікрочіпах, кількісних аналізів олігонуклеотидної лігази, флєп-ендонуклеаз, 5'-ендонуклеаз, подовження праймера, одноланцюгового конформаційного поліморфізму (SSCP) або гелю-електрофорезу з градієнтом температури (TGGE). Перевага секвенування ДНК, такого як технологія піросеквенування, полягає в тому, що воно дозволяє виявити ряд зчеплених алелів SNP, які складають гаплотип. Гаплотипи, здебільшого, є більш інформативними (виявляють більш високий рівень поліморфізму), ніж SNP.

"Маркерний алель", альтернативно "алель маркерного локусу", може належити до однієї з безлічі поліморфних нуклеотидних послідовностей, виявлених в маркерному локусі в популяції. Стосовно маркеру SNP, алель належить до специфічної нуклеотидної основи, присутньої в цьому локусі SNP у цієї окремої рослини.

"Тонке картування" стосується способів, за допомогою яких положення геномної області (наприклад, QTL) може бути визначено більш точно (конкретизовано), і за допомогою якого зменшується розмір фрагмента інтрогресії, що містить QTL. Наприклад, можуть бути отримані майже ізогенні лінії (NIL) для QTL або гаплотипу (QTL/гаплотип-NIL), які містять різні, фрагменти фрагмента інтрогресії, які перекриваються, в межах однорідного в іншому генетичного фону рекурентного батька. Такі лінії потім можуть бути використані для картування того, на якому фрагменті розташований QTL/гаплотип, і для ідентифікації лінії, що має більш короткий фрагмент інтрогресії, що містить QTL/гаплотип.

"Маркерна селекція" (MAS) являє собою процес, за допомогою якого окремі рослини відбираються на основі маркерних генотипів. "Маркерна контрселекція" являє собою процес, за допомогою якого маркерні генотипи використовуються для ідентифікації рослин, які не будуть відібрані, що дозволяє виключити їх з програми селекції або посадки. Маркерна селекція використовує присутність молекулярних маркерів, які генетично зчеплені з конкретним локусом або з конкретною областю хромосоми (наприклад, фрагмент інтрогресії, трансген, поліморфізм, мутація тощо) для відбору рослин, у яких присутній конкретний локус або область (фрагмент інтрогресії, трансген, поліморфізм, мутація тощо). Наприклад, молекулярний маркер, генетично зчеплений з областю геному (наприклад, гаплотипом) або геном (наприклад, алель RLC1, що надає стійкість до патогену), як визначено в цьому документі, може бути використаний для виявлення і/або відбору рослин, що містять HT2/HT3 на хромосомі 8. Чим ближче генетичне зчеплення молекулярного маркеру з локусом (наприклад, приблизно 7 сМ, 6 сМ, 5 сМ, 4 сМ, 3 сМ, 2 сМ, 1 сМ, 0,5 сМ або менше), тим менш імовірно, що маркер відокремлений від локусу за допомогою рекомбінації в мейозі. Аналогічним чином, чим ближче два маркери зчеплені один з одним (наприклад, в межах 7 або 5 сМ, 4 сМ, 3 сМ, 2 сМ, 1 сМ або менше), тим менш імовірно, що два маркери будуть відокремлені один від одного (і тим більше імовірно, що вони будуть косегрегувати як єдине ціле). Маркер "в

межах 7 сМ або в межах 5 сМ, 3 сМ, 2 сМ або 1 сМ" іншого маркера стосується маркеру, який генетично картується в області, в межах 7 сМ або 5 сМ, 3 сМ, 2 сМ або 1 сМ області, що фланкує маркер (тобто, по обидва бока від маркера). Аналогічним чином, маркер в межах 10 Мб, 5 Мб, 3 Мб, 2,5 Мб, 2 Мб, 1 Мб, 0,5 Мб, 0,4 Мб, 0,3 Мб, 0,2 Мб, 0,1 Мб, 50 кб, 20 кб, 10 кб, 5 кб, 2 кб, 1 кб або менше іншого маркера, стосується маркеру, який фізично розташований в межах 10 Мб, 5 Мб, 3 Мб, 2,5 Мб, 2 Мб, 1 Мб, 0,5 Мб, 0,4 Мб, 0,3 Мб, 0,2 Мб, 0,1 Мб, 50 кб, 20 кб, 10 кб, 5 кб, 2 кб, 1 кб або менше, області геномної ДНК, що фланкує маркер (тобто, по обидва бока від маркера). "LOD-бал" (кількісний показник зчеплення генів) (логарифм (основа 10) відносини шансів) стосується статистичного випробування, що часто використовується для аналізу зчеплень в популяціях тварин і рослин. LOD-бал порівнює імовірність отримання даних випробування, якщо два локуси (локуси молекулярного маркера і/або локус фенотипової ознаки) дійсно зчеплені, з імовірністю спостереження тих самих даних чисто випадково. Позитивні LOD-бали свідчать про наявність зчеплення, а LOD-бал, що перевищує 3,0, вважається доказом зчеплення. LOD-бал +3 вказує на ймовірність 1000 до 1, що спостережуване зчеплення виникло не випадково.

"Маркерний гаплотип" стосується комбінації (маркерних) алелів в (маркерному) локусі.

"Маркерний локус" являє собою конкретне місце розташування хромосоми в геномі виду, де може бути виявлений конкретний маркер. Маркерний локус може бути використаний для відстеження присутності другого зчепленого локусу, наприклад, локусу, який негативно впливає на експресію фенотипової ознаки. Наприклад, маркерний локус може використовуватися для відстеження сегрегації алелів в генетично або фізично зчепленому локусі.

"Маркерний зонд" являє собою послідовність нуклеїнової кислоти або молекулу, яка може бути використана для ідентифікації присутності маркерного локусу, наприклад, зонд нуклеїнової кислоти, який є комплементарним послідовності маркерного локусу, за допомогою гібридизації нуклеїнової кислоти. Маркерні зонди, що містять щонайменше 30 суміжних нуклеотидів маркерного локусу ("всі або частина" послідовності маркерного локусу), можуть бути використані для гібридизації нуклеїнової кислоти. В альтернативному варіанті здійснення цього винаходу, в деяких аспектах, маркерний зонд стосується зонду будь-якого типу, який здатний розрізняти (тобто, генотип) конкретний алель, який присутній в маркерному локусі.

Термін "молекулярний маркер" може використовуватися для позначення генетичного маркера або його кодованого продукту (наприклад, білка), використовуваного як вихідна точка під час ідентифікації зчепленого локусу. Маркер може бути отриманий з геномних нуклеотидних послідовностей або з нуклеотидних послідовностей, що експресуються, (наприклад, з сплайсованої РНК, кДНК і так далі) або з кодованого поліпептиду. Цей термін також стосується послідовностей нуклеїнової кислоти, комплементарних або фланкуючих маркерні послідовності, таких як нуклеїнові кислоти, використовувані як зонди, або пар праймерів, здатних ампліфікувати маркерну послідовність. "Зонд молекулярного маркера" являє собою послідовність нуклеїнової кислоти або молекулу, яка може бути використана для ідентифікації присутності маркерного локусу, наприклад, зонд нуклеїнової кислоти, який є комплементарним послідовності маркерного локусу. В альтернативному варіанті здійснення цього винаходу, в деяких аспектах, маркерний зонд стосується зонду будь-якого типу, який здатний розрізняти (тобто, генотип) конкретний алель, який присутній в маркерному локусі. Нуклеїнові кислоти "є комплементарними", якщо вони специфічно гібридизуються в розчині, наприклад, відповідно до правил спарювання основ за Уотсоном-Кріком. Деякі з маркерів, описаних у цьому документі, також згадуються як гібридизаційні маркери, якщо вони розташовані в області інсерційно-делеційного поліморфізму, такої як неколінеарна область, що описана в цьому документі. Це пов'язано з тим, що область інсерції, за визначенням, є поліморфізмом проти рослини без інсерції. Отже, маркер має тільки вказувати, чи присутня або відсутня область інсерційно-делеційного поліморфізму. Будь-яка придатна технологія виявлення маркера може бути використана для ідентифікації такого гібридизаційного маркера, наприклад, у прикладах, наведених у цьому документі, використовується технологія SNP.

"Генетичні маркери" являють собою нуклеїнові кислоти, які є поліморфними у популяції, і алелі яких можуть бути виявлені та розпізнані щонайменше одним аналітичним способом, наприклад, RFLP, AFLP, ізоферментом, SNP, SSR і т. ін. Терміни "молекулярний маркер" і "генетичний маркер" використовуються в цьому документі взаємозамінно. Цей термін також стосується послідовностей нуклеїнової кислоти, яка є комплементарною геномним послідовностям, таким як нуклеїнові кислоти, які використовуються як зонди. Маркери, що відповідають генетичним поліморфізмам між членами популяції, можуть бути виявлені за допомогою методів, що добре зарекомендували себе в цій галузі техніки. Вони включають, наприклад, методи специфічної ампліфікації послідовностей на основі ПЛР, виявлення поліморфізмів довгих рестрикційних фрагментів (RFLP), виявлення маркерів ізоферментів, виявлення полінуклеотидних поліморфізмів за допомогою алель-специфічної гібридизації (ASH), виявлення ампліфікованих варіабельних послідовностей генома рослини, виявлення самопідтримуваної реплікації послідовностей, виявлення простих повторюваних послідовностей (SSR), виявлення одонуклеотидних поліморфізмів (SNP) або виявлення поліморфізмів довжин ампліфікованих фрагментів (AFLP). Також відомі добре зарекомендувавши себе методи виявлення маркерних послідовностей (EST) і SSR-маркерів, що експресуються, отриманих з послідовностей EST і випадково ампліфікованої поліморфної ДНК (RAPD).

"Поліморфізм" являє собою варіацію в ДНК між щонайменше двома індивідуумами в популяції. Поліморфізм переважно має частоту щонайменше 1 % в популяції. Корисний поліморфізм може включати одонуклеотидний поліморфізм (SNP), просту повторювану послідовність (SSR) або інсерційно-делеційний поліморфізм, також званий в цьому документі "інсерційно-делеційний поліморфізм". Термін "інсерційно-делеційний поліморфізм" стосується інсерції або делеції, при цьому, одна лінія може згадуватися як та, що має вставлений нуклеотид або фрагмент ДНК щодо другої лінії, або друга лінія може згадуватися як та, що має віддалений нуклеотид або фрагмент ДНК відносно першої лінії.

"Фізична відстань" між локусами (наприклад, між молекулярними маркерами і/або між фенотипічними маркерами) на тій самій хромосомі, являє собою фактичну фізичну відстань, виражену в основах або парах основ (п.о.), кілобазах або тисячах пар основ (кб), або мегабазах, або мільйонах пар основ (Мб).

"Генетична відстань" між локусами (наприклад, між молекулярними маркерами і/або між фенотипічними маркерами) на тій самій хромосомі вимірюється частотою кросинговера або частотою рекомбінації (RF), і вказується в сантиморганах (сМ). Один сМ відповідає частоті рекомбінації 1 %. Якщо рекомбіанти не можна знайти, то RF дорівнює нулю, і локуси знаходяться або дуже близько один до одного фізично, або вони ідентичні. Чим далі один від одного знаходяться два локуси, тим вище RF.

"Фізична карта" генома представляє карту, що показує лінійний порядок ідентифікованих орієнтирів (включно з генами, маркерами тощо) на хромосомній ДНК. Однак, на відміну від генетичних карт, відстані між орієнтирами є абсолютними (наприклад, вимірюються в парах основ або виділених і суміжних генетичних фрагментах, що перекриваються) і не засновані на генетичній рекомбінації (яка може варіюватися в різних популяціях).

Алель "негативно" корелює з ознакою, якщо він зчеплений з нею, і якщо присутність алеля є показником того, що бажана ознака або форма ознаки не будуть зустрічатися у рослини, що містить цей алель. Алель "позитивно" корелює з ознакою, якщо він зчеплений з нею, і якщо присутність алеля є показником того, що бажана ознака або форма ознаки будуть зустрічатися у рослини, що містить цей алель.

Сантиморган ("сМ") являє собою одиницю виміру частоти рекомбінації. Один сМ дорівнює 1 % ймовірності того, що маркер в одному генетичному локусі буде відділений від маркера в другому локусі через кросинговер в одному поколінні.

Використовуваний в цьому документі термін "хромосомний інтервал", позначає безперервний лінійний інтервал геномної ДНК, який знаходиться в *planta* на одній хромосомі. Генетичні елементи або гени, які розташовані на одному хромосомному інтервалі, фізично зчеплені. Розмір хромосомного інтервалу особливо не обмежений. У деяких аспектах, генетичні елементи, які розташовані в межах одного хромосомного інтервалу, генетично зчеплені, зазвичай з відстанню генетичної рекомбінації, наприклад, меншим або рівним 20 сМ, або, в альтернативному варіанті, меншим або рівним 10 сМ. Тобто, два генетичних елемента в межах одного хромосомного інтервалу піддаються рекомбінації з частотою, меншою або рівною 20 % або 10 %.

Термін "тісно зчеплений" в цій заявці означає, що рекомбінація між двома зчепленими локусами відбувається з частотою, рівною або меншою примірно 10 % (тобто, відокремлені на генетичній карті не більше ніж на 10 сМ). Іншими словами, тісно зчеплені локуси спільно косягуються щонайменше в 90 % випадків. Маркерні локуси особливо корисні для об'єкта цього винаходу, якщо вони демонструють значну імовірність косягування (зчеплення) з бажаною ознакою (наприклад, зі стійкістю до сірої плямистості листя). Тісно зчеплені локуси, як-от маркерний локус і другий локус, можуть відображати частоту міжлокусної рекомбінації 10 % або менше, переважно примірно 9 % або менше, ще більш переважно примірно 8 % або менше, ще більш переважно примірно 7 % або менше, ще більш переважно примірно 6 % або менше, ще більш переважно примірно 5 % або менше, ще більш переважно примірно 4 % або менше, ще більш переважно примірно 3 % або менше, і ще більш переважно примірно 2 % або менше. В дуже кращих варіантах здійснення цього винаходу, відповідні локуси відображають частоту рекомбінації примірно 1 % або менше, наприклад, примірно 0,75 % або менше, більш переважно примірно 0,5 % або менше, або ще більш переважно примірно 0,25 % або менше. Два локуси, які локалізовані в одній і тій же хромосомі, і на такій відстані, що рекомбінація між двома локусами відбувається з частотою менше 10 % (наприклад, примірно 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,75 %, 0,5 %, 0,25 % або менше), також називаються "проксимальними" один одному. У деяких випадках два різних маркера можуть мати однакові координати генетичної карти. У цьому випадку два маркери є настільки проксимальними один одному, що рекомбінація відбувається між ними з такою низькою частотою, що її неможливо виявити.

"Зчеплення" стосується тенденції алелів сегрегуювати разом частіше, ніж очікувалося, випадково, якщо їх передача була незалежною. Здебільшого, зчеплення стосується алелів на тій самій хромосомі. Генетична рекомбінація відбувається з передбачуваною випадковою частотою по всьому геному. Генетичні карти будуються шляхом вимірювання частоти рекомбінації між парами ознак або маркерів. Чим ближче ознаки або маркери розташовані один до одного на хромосомі, тим нижче частота рекомбінації, і тим вище ступінь зчеплення. Ознаки або маркери вважаються в цьому документі зчепленими, якщо вони зазвичай спільно косягуються. Імовірність рекомбінації 1/100 на покоління визначається як відстань на генетичній карті 1,0 сантиморган (1,0 сМ). Термін "нерівноважне зчеплення" стосується невідповідної сегрегації генетичних локусів або ознак (або того й іншого). У будь-якому випадку, нерівноважне зчеплення передбачає, що відповідні локуси досить фізично проксимальні по довжині хромосоми, так що вони сегрегуються разом з більшою, ніж випадкова (тобто, невідповідна), частотою. Маркери, які показують нерівноважне зчеплення, вважаються зчепленими. Зчеплені локуси косягуються більш ніж в 50 % випадків, наприклад, примірно від 51 % до примірно 100 % випадків. Іншими словами, два маркери, які косягуються, мають частоту рекомбінації менше 50 % (і, за визначенням, відокремлені менш ніж на 50 сМ в одній і тій же групі зчеплення). У контексті цього документа, зчеплення може бути між двома маркерами або, в альтернативному варіанті, між маркером і локусом, що впливає на фенотип. Маркерний локус може бути "асоційований" (зчеплений) з ознакою. Ступінь зчеплення маркерного локусу і локусу, що впливає на фенотипічну ознаку, вимірюється, наприклад, як статистична імовірність косягування цього молекулярного маркера з фенотипом (наприклад, статистика F або LOD-бал).

Генетичні елементи або гени, які розташовані на одному сегменті хромосоми, фізично зчеплені. У деяких варіантах здійснення цього винаходу, два локуси розташовані в безпосередній близькості, так що рекомбінація між парами гомологічних хромосом не відбувається між двома локусами під час мейозу з високою частотою, наприклад, таким чином, що зчеплені локуси косягуються щонайменше примірно в 90 % випадків, наприклад, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 %, 99,75 % або більше випадків. Генетичні елементи, які розташовані в межах хромосомного сегмента, також "генетично зчеплені", зазвичай в межах відстані генетичної рекомбінації, меншої або рівної 50 сМ, наприклад, примірно 49, 48, 47, 46, 45, 44, 43, 42, 41, 40, 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, 0,75, 0,5, 0,25 сМ або менше. Тобто, два генетичних елемента в межах одного хромосомного сегмента піддаються рекомбінації під час мейозу один з одним з частотою, меншою або рівною примірно 50 %, наприклад,

примірно 49 %, 48 %, 47 %, 46 %, 45 %, 44 %, 43 %, 42 %, 41 %, 40 %, 39 %, 38 %, 37 %, 36 %, 35 %, 34 %, 33 %, 32 %, 31 %, 30 %, 29 %, 28 %, 27 %, 26 %, 25 %, 24 %, 23 %, 22 %, 21 %, 20 %, 19 %, 18 %, 17 %, 16 %, 15 %, 14 %, 13 %, 12 %, 11 %, 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,75 %, 0,5 %, 0,25 % або менше. "Тісно зчеплені" маркери відображають частоту кросовера з цим маркером, що становить примірно 10 % або менше, наприклад, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,75 %, 0,5 %, 0,25 % або менше (цей маркерний локус знаходиться в межах примірно 10 cM від тісно зчепленого маркерного локусу, наприклад, в межах 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, 0,75, 0,5, 0,25 cM або менше від тісно зчепленого маркерного локусу). Іншими словами, тісно зчеплені маркерні локуси коасегрегуються щонайменше примірно в 90 % випадків, наприклад, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 %, 99,75 % або більше випадків.

Термін "патоген", який використовується в цьому документі, зазвичай стосується будь-якого типу збудника інфекції, здатного викликати (інфекційне) захворювання, і включає, без обмеження, вірус, бактерію, найпростіше, прион, віроїд або гриб (включно з дріжджами). Крім того, паразити, такі як комахи або черв'яки, а також паразитичні рослини або водорості, здебільшого охоплюються терміном "патоген", що використовується в цьому документі.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, термін патоген, згаданий у цьому документі, є грибовим патогеном. У певних варіантах здійснення цього винаходу, грибовий патоген стосується підрозділу Ascomycota або Basidiomycota. Грибовий патоген може належати до сімейства Pleosporaceae, Pucciniaceae або Botryosphaeriaceae. Переважно, грибовий патоген належить до роду *Setosphaeria*, *Bipolaris*, *Puccinia* або *Diplodia*, більш переважно є видом *Helminthosporium turcicum*, *Setosphaeria rostrata*, *Setosphaeria glycinea*, *Setosphaeria holmii*, *Setosphaeria khartoumensis*, *Setosphaeria minor*, *Setosphaeria monoceras*, *Setosphaeria pedicellata*, *Setosphaeria prolata*, *Bipolaris australis*, *Bipolaris brizae*, *Bipolaris buchloes*, *Bipolaris cactivora*, *Bipolaris clavata*, *Bipolaris coicis*, *Bipolaris colocasiae*, *Bipolaris crotonis*, *Bipolaris crustacean*, *Bipolaris cylindrical*, *Bipolaris euchlaenae*, *Bipolaris halepensis*, *Bipolaris heveae*, *Bipolaris incurvata*, *Bipolaris indica*, *Bipolaris iridis*, *Bipolaris leersiae*, *Bipolaris micropus*, *Bipolaris miyakei*, *Bipolaris multiformis*, *Bipolaris nicotiae*, *Bipolaris novae-zelandiae*, *Bipolaris ovariicola*, *Bipolaris panici-miliacei*, *Bipolaris papendorffii*, *Bipolaris sacchari*, *Bipolaris salkadehensis*, *Bipolaris sorghicola*, *Bipolaris subpapendorffii*, *Bipolaris tropicalis*, *Bipolaris urochloae*, *Bipolaris zeae*, *Puccinia asparagi*, *Puccinia graminis*, *Puccinia horiana*, *Puccinia mariae-wilsoniae*, *Puccinia poarum*, *Puccinia psidii*, *Puccinia recondite*, *Puccinia sessilis*, *Puccinia sorghi*, *Puccinia striiformis*, *Puccinia triticina*, *Diplodia maydis*, *Diplodia seriata* або *Stenocarpella* (*Diplodia*) *macrospora*, більш переважно є *Helminthosporium turcicum*, *Puccinia sorghi*, *Diplodia macrospora* або *Bipolaris maydis*.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, грибовий патоген викликає грибкове захворювання рослин. Відповідно, у певних варіантах здійснення цього винаходу захворювання рослин, згадане в цьому документі, є грибковим захворюванням. У кращому варіанті здійснення цього винаходу, захворювання рослин обрано з групи, що складається з Гельмінтоспоріозної плямистості листя кукурудзи (що викликається *Helminthosporium turcicum*), Глазкової плямистості листя кукурудзи (що викликається *Bipolaris maydis*), Іржі з кукурудзи (що викликається *Puccinia sorghi* та Смугової плямистості листя диплодії (що викликається *Diplodia macrospora*, також званої *Stenocarpella macrospora*). Найбільш переважно, захворюванням рослин є Гельмінтоспоріозна плямистість листя кукурудзи (NCLB).

У певних варіантах здійснення цього винаходу термін "патоген", використовуваний в цьому документі, відноситься до патогенного гриба. У певних варіантах здійснення цього винаходу, термін "патоген", використовуваний в цьому документі, відноситься до патогенного гриба роду *Exserohilum* (синонім *Helminthosporium*). У певних варіантах здійснення цього винаходу термін "патоген", використовуваний в цьому документі, відноситься до патогенного гриба виду *Exserohilum turcicum* (синонім *Helminthosporium turcicum*). У певних варіантах здійснення цього винаходу термін "патоген", використовуваний в цьому документі, відноситься до патогену, що викликає Гельмінтоспоріозну плямистість листя кукурудзи.

У контексті цього документа, *Exserohilum turcicum* може використовуватися взаємозамінно з *Helminthosporium turcicum*. *Exserohilum turcicum* являє собою анаморф *Setosphaeria turcica*. *Exserohilum turcicum*/*Setosphaeria turcica* відносяться до типу Ascomycota, підкласу Pleosporales і сімейства Pleosporaceae. *Exserohilum turcicum* викликає захворювання рослин Гельмінтоспоріозною плямистістю листя кукурудзи. Найбільш поширеним діагностичним симптомом Гельмінтоспоріозної плямистості листя кукурудзи є сигароподібні (еліптичні) некротичні сіро-зелені ураження на листі довжиною кілька сантиметрів.

В одному аспекті, цей винахід стосується способу генерування рослини кукурудзи або частини рослини, переважно рослини кукурудзи, що має (підвищену) стійкість і/або толерантність до патогену, переважно, при цьому зазначеним патогеном є *Exserohilum turcicum*, що містить введення в геном рослини або частини рослини полінуклеїнової кислоти за цим винаходом, як описано в цьому документі.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота має послідовність, що міститься в хромосомному інтервалі Zea Mays на хромосомі 8, і фланковану молекулярним маркером (алелем) PZE-108092843 і PZA-003182005, як-от полінуклеїнова кислота, що містить щонайменше один (HT2 або HT3) молекулярний маркер (алель) MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071, MA0064, PZE-108095339 та Affx-91328160, як також описано в цьому документі в іншому місці. Фахівець в цій галузі техніки зрозуміє, що полінуклеїнова кислота щонайменше містить ген RLK1 HT2/HT3, який необов'язково містить фланкуючі послідовності. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота не містить щонайменше один (HT2 або HT3) молекулярний маркер (алель) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 та MA0025, як також описано у цьому документі в іншому місці.

У певних варіантах здійснення цього винаходу полінуклеїнову кислоту вводять шляхом інтрогресії.

У певних варіантах здійснення цей винахід стосується способу генерування рослини кукурудзи або частини рослини, переважно рослини кукурудзи або частини рослини, що має підвищену стійкість і/або толерантність до патогену, переважно, при цьому згаданим патогеном є *Exserohilum turcicum*, що містить (а) надання першої рослини кукурудзи, ідентифікованої згідно з способом ідентифікації рослини кукурудзи або частини рослини, як

описано в цьому документі в іншому місці, (b) схрещування згаданої першої рослини кукурудзи з другою рослиною кукурудзи, (c) відбір рослин-нащадків, що містять полінуклеїнову кислоту згідно з цим винаходом, як описано в цьому документі в іншому місці, щонайменше будь-який один молекулярний маркер (алель) MA0045, MA0062, MA0063, MA0070, MA0071, MA0064, PZE-108095339 та Affx-91328160 або комбінації, як описано у цьому документі в іншому місці; та необов'язково (d) збирання згаданої частини рослини кукурудзи із згаданого потомства.

Використовувані в цьому документі терміни "інтрогресія", "інтрогресований" і "інтрогресування" стосуються як природного, так і штучного процесу, за допомогою якого хромосомні фрагменти або гени одного виду або сорту переміщуються в геном іншого виду або сорту шляхом схрещування цих видів. Процес необов'язково може бути завершений зворотним схрещуванням з рекурентним батьком. Наприклад, інтрогресія бажаного алелю в зазначеному локусі може бути передана щонайменше одному потомству за допомогою статевого схрещування між двома батьками одного і того ж виду, де щонайменше один з батьків має бажаний алель в своєму геномі. В альтернативному варіанті здійснення цього винаходу, наприклад, трансмісія алеля може відбуватися шляхом рекомбінації між двома донорними геномами, наприклад, в злитому протопласті, де щонайменше один з донорних протопластів має бажаний алель в своєму геномі. Бажаний алель може бути виявлений, наприклад, за допомогою маркеру, який асоційований з фенотипом, гаплотипом, QTL, трансгеном або чимось подібним. У будь-якому випадку, потомство, що містить бажаний алель, може бути неодноразово піддане зворотному схрещуванню з лінією, що має бажане генетичне тло, і відібрано для бажаного алелю, що призведе до закріплення алеля в обраному генетичному тлі. Процес "інтрогресування" часто називають "зворотним схрещуванням", якщо процес повторюється щонайменше два рази. "Фрагмент інтрогресії" або "сегмент інтрогресії", або "область інтрогресії" стосується хромосомного фрагменту (або частини, або області хромосоми), який був введений в іншу рослину того ж або спорідненого виду або штучним, або природним шляхом, наприклад, шляхом схрещування, або традиційними методами селекції, наприклад, зворотним схрещуванням, тобто, інтрогресований фрагмент є результатом методів селекції, що позначаються дієсловом "інтрогресувати" (наприклад, зворотне схрещування). При цьому розуміється, що термін "фрагмент інтрогресії" ніколи не включає цілу хромосому, а тільки частину хромосоми. Фрагмент інтрогресії може бути великим, наприклад, навіть три чверті або половина хромосоми, але, переважно він менше, наприклад, примірно 15 Мб або менше, наприклад, примірно 10 Мб або менше, примірно 9 Мб або менше, примірно 8 Мб або менше, примірно 7 Мб або менше, примірно 6 Мб або менше, примірно 5 Мб або менше, примірно 4 Мб або менше, примірно 3 Мб або менше, примірно 2,5 Мб або 2 Мб, або менше, примірно 1 Мб (дорівнює 1000000 пар основ) або менше, або примірно 0,5 Мб (дорівнює 500000 пар основ) або менше, наприклад, примірно 200000 п.о. (дорівнює 200 кілобаз основ) або менше, примірно 100000 п.о. (100 кб) або менше, примірно 50000 п.о. (50 кб) або менше, примірно 25000 п.о. (25 кб) або менше.

Вважається, що генетичний елемент, фрагмент інтрогресії, або ген, або алель, що надає ознаку (як-от підвищена стійкість або толерантність до патогену) "отримують з", або він може бути "отриманий з", або "отримуваний з", або він може бути "отриманий з", або "присутній у" або "виявлений в" рослині або частині рослини, як описано в цьому документі в іншому місці, якщо його можна перенести з рослини, в якій він присутній, в іншу рослину, в якій він не присутній (наприклад, лінія або сорт), використовуючи традиційні методи селекції, не призводячи до фенотипової зміни рослини-реципієнта, за винятком додавання ознаки, що надається генетичним елементом, локусом, фрагментом інтрогресії, геном або алелем. Терміни використовуються взаємозамінно, і генетичний елемент, локус, фрагмент інтрогресії, ген або алель, таким чином, можуть бути перенесені в будь-яке інше генетичне тло, в якому відсутня ознака. Можуть бути використані не тільки рослини, що містять генетичний елемент, локус, фрагмент інтрогресії, ген або алель, але також можуть бути використані і потомство/нащадки від таких рослин, які були відібрані для збереження генетичного елемента, локусу, фрагмента інтрогресії, гену або алелю, і які охоплюються цим документом. Чи містить рослина (або геномна ДНК, клітина або тканина рослини) той же генетичний елемент, локус, фрагмент інтрогресії, ген або алель, який можна отримати від такої рослини, може бути визначено фахівцем в цій галузі техніки з застосуванням щонайменше одного методу, відомого в цій галузі техніки, такого як фенотипічні кількісні аналізи, повногеномне секвенування, аналіз молекулярних маркерів, картування ознаки, "розпис" хромосоми, тести на алелізм і т. ін., або комбінації методів. Слід розуміти, що трансгенні рослини також можуть бути охоплені.

У певних варіантах здійснення цього винаходу полінуклеїнова кислота введена (і геномно інтегрована) рекомбінантно або трансгенно. Полінуклеїнова кислота може бути введена (і геномно інтегрована) в нативний локус, щоб замінити ендегенну полінуклеїнову кислоту (як-от полінуклеїнова кислота, що не надає стійкості до патогену), або може бути введена (і геномно інтегрована) в локус, відмінний від ендегенного локусу (наприклад, шляхом випадкової інтеграції у геномі). У певних варіантах здійснення цього винаходу спосіб генерування рослини кукурудзи або частини рослини містить трансформацію рослини або частини рослини, переважно рослинної клітини, більш переважно протопласту, за допомогою полінуклеїнової кислоти, яка може бути надана на векторі, як описано в цьому документі в іншому місці. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота має послідовність, відмінну від ендегенної полінуклеїнової кислоти (як-от ендегенна полінуклеїнова кислота, що не надає стійкості до патогену).

Використовувані в цьому документі терміни "генна інженерія", "трансформація" і "генетична модифікація" використовуються в цьому документі як синоніми перенесення виділених і клонованих генів в ДНК, зазвичай хромосому ДНК або геном, іншого організму.

"Трансгенні" або "генетично модифіковані організми" (ГМО), що використовуються в цьому документі, являють собою організми, генетичний матеріал яких був змінений із застосуванням методів, зазвичай відомих як "технологія рекомбінантної ДНК". Технологія рекомбінантної ДНК охоплює можливість об'єднання молекул ДНК з різних джерел в одну молекулу *ex vivo* (наприклад, в пробірці). Термін "трансгенний" у цьому документі означає генетично модифікований шляхом введення неендогенної послідовності нуклеїнової кислоти. Зазвичай

видоспецифічну послідовність нуклеїнової кислоти вводять в клітину в формі, розташуванні або кількості в місці, де послідовність нуклеїнової кислоти не зустрічається в клітині природним шляхом. Ця термінологія зазвичай не охоплює організми, генетичний склад яких був змінений внаслідок звичайного кроссбридингу або "мутагенезної" селекції, оскільки ці способи передують відкриттю методів рекомбінантної ДНК. Термін "нетрансгенний", використовуваний в цьому документі, стосується рослин і харчових продуктів, отриманих від рослин, які не є "трансгенними" або "генетично модифікованими організмами", як визначено вище.

"Трансгенний" або "химерний ген" стосується генетичного локусу, що містить послідовність ДНК, як-от рекомбінантний ген, який був введений в геном рослини шляхом трансформації, як-от трансформація, опосередкована *Agrobacterium*. Рослина, що містить трансген, стабільно інтегрований в її геном, іменується як "трансгенна рослина".

"Редагування генів" або "редагування генома" стосується генної інженерії, при якій ДНК або РНК вставляються, видаляються, модифікуються або замінюються в геномі живого організму. Редагування генів може містити цілеспрямований або нецілеспрямований (випадковий) мутагенез. Цілеспрямований мутагенез може бути здійснений, наприклад, за допомогою дизайнерських нуклеаз, як-от, наприклад, мегануклеази, цинк-пальцеві нуклеази (ZFN), нуклеази на основі ефектора, подібного активатору транскрипції (TALEN), і система кластеризованих регулярних проміжних коротких паліндромних повторів (CRISPR/Cas9). Ці нуклеази створюють сайт-специфічні дволанцюгові розриви (DSB) у бажаних місцях генома. Індуковані дволанцюгові розриви репаруються шляхом негомологічного з'єднання кінців (NHEJ) або гомологічної рекомбінації (HR), що призводить до цілеспрямованих мутацій або модифікацій нуклеїнової кислоти. Застосування дизайнерських нуклеаз особливо придатне для генерації нокаутів або нокадаунів генів. У певних варіантах здійснення цього винаходу, розроблені дизайнерські нуклеази, які специфічно вводять щонайменше один молекулярний маркер (маркерний алель) за цим винаходом, як описано в цьому документі. Системи доставки та експресії систем дизайнерських нуклеаз добре відомі у цій галузі техніки.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, нуклеаза або цілеспрямована/сайт-специфічна/хомінг-нуклеаза являє собою, містить, складається по суті, або складається з (модифікованої) системи або комплексу CRISPR/Cas, (модифікованого) білка Cas, (модифікованого) цинкового пальця, (модифікованої) цинк-пальцевої нуклеази (ZFN), (модифікованого) ефектора, подібного фактору транскрипції (TALE), (модифікованої) ефекторної нуклеази, подібної фактору транскрипції (TALEN), або (модифікованої) мегануклеази. У певних варіантах здійснення цього винаходу, згадана (модифікована) нуклеаза або цілеспрямована/сайт-специфічна/хомінг-нуклеаза являє собою, містить, складається по суті з, або складається з (модифікованої) РНК-направляючої нуклеази. Слід розуміти, що в певних варіантах здійснення цього винаходу нуклеази можуть являти собою кодон, оптимізований для експресії в рослинах. Використовуваний в цьому документі термін "цілеспрямований" обраної послідовності нуклеїнової кислоти означає, що нуклеаза або нуклеазний комплекс діє специфічним для нуклеотидної послідовності чином. Наприклад, в контексті системи CRISPR/Cas спрямовуюча РНК здатна до гібридизації з обраною послідовністю нуклеїнової кислоти. Використовуваний в цьому документі термін "гібридизація" або "гібридування" стосується реакції, в якій щонайменше один полінуклеотид вступає в реакцію з утворенням комплексу, який стабілізується за допомогою водневого зв'язку між основами нуклеотидних залишків, тобто, процес, в якому одноланцюгова молекула нуклеїнової кислоти приєднується до комплементарного ланцюга нуклеїнової кислоти, тобто, узгоджується з цим спарюванням основ. Стандартні процедури гібридизації описані, наприклад, в роботі Сембрук і співавт. [Молекулярне клонування. Лабораторний посібник, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 3-є видання 2001 року]. Водневий зв'язок може здійснюватися шляхом спарювання основ за Уотсоном Криком, зв'язування за Хугстіном або будь-яким іншим специфічним для послідовності способом. Комплекс може містити два ланцюга, що утворюють дуплексну структуру, щонайменше три ланцюга, що утворюють багатоланцюговий комплекс, поодинокий самогібридизуючийся ланцюг або будь-яку їхню комбінацію. Реакція гібридизації може являти собою етап більш широкого процесу, такого як ініціація ПЛР або розщеплення полінуклеотиду ферментом. Послідовність, здатна до гібридизації з цієї послідовністю, має назву "комплементу" цієї послідовності. Переважно це означає, що щонайменше 50 %, більш переважно щонайменше 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 % або 85 %, більш переважно 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % основ ланцюга нуклеїнової кислоти утворюють пари основ з комплементарним ланцюгом нуклеїнової кислоти. Можливість такого зв'язування залежить від жорсткості умов гібридизації.

Редагування генів може включати транзиснтну, індукцйбельну або конститутивну експресію компонентів або систем редагування генів. Редагування генів може включати геномну інтеграцію або епісомальну присутність компонентів або систем редагування генів. Компоненти або системи редагування генів можуть бути запропоновані на векторах, як-от плазміді, які можуть бути доставлені відповідними засобами доставки, як відомо в цій галузі техніки. Кращими векторами є вектори експресії.

Редагування генів може містити пропозицію рекомбінантних матриць для здійснення репарації, що направляється гомологією (HDR). Наприклад, генетичний елемент може бути замінений шляхом редагування гена, при якому запропонована рекомбінантна матриця. ДНК може бути розрізана вище і нижче послідовності, яку необхідно замінити. Отже, послідовність, що підлягає заміні, вирізають з ДНК. За допомогою HDR вирізана послідовність потім замінюється матрицею. У певних варіантах здійснення цього винаходу, маркер (алель) цього винаходу, як описано в цьому документі, може бути запропонований на матриці/як матриця. При конструюванні системи таким чином, що дволанцюгові розриви вводяться вище і нижче відповідної області в геномі рослини, що не містить маркер (алель), цю область вирізають і вона може бути замінена матрицею, що містить маркер (алель) за цим винаходом. Отже, введення маркеру (алелю) за цим винаходом в рослину необов'язково має включати багаторазове зворотне схрещування, зокрема, в рослині зі специфічним генетичним тлом. Аналогічним чином, полінуклеїнова кислота за цим винаходом може бути запропонована на матриці/як матриця. Однак більш переважно полінуклеїнова кислота за цим винаходом може бути згенерована без використання рекомбінаційної матриці, але виключно завдяки дії ендонуклеази, що призводить до розриву дволанцюгової ДНК, який

репарується NHEJ, що призводить до утворення інсерційно-делеційного поліморфізму.

У певних варіантах здійснення цього винаходу модифікація нуклеїнової кислоти здійснюється шляхом випадкового мутагенезу. Клітини або організми можуть піддаватися впливу мутагенів, таких як ультрафіолетове випромінювання або мутагенні хімічні речовини (такі, наприклад, як етилметансульфонат (EMS)), і потім відбираються мутанти з бажаними характеристиками. Мутанти можуть, наприклад, бути ідентифіковані за допомогою TILLING (таргетування індукованих локальних уражень в геномах). Спосіб поєднує мутагенез, як-от мутагенез із застосуванням хімічного мутагену, такого як етилметансульфонат (EMS), з чутливим методом скринінгу ДНК, який ідентифікує одноосновні мутації/точкові мутації в гені-мішені. Метод TILLING заснований на утворенні гетеродуплексів ДНК, які утворюються, якщо множинні алелі ампліфікуються за допомогою ПЛР, а потім нагріваються і повільно охолоджуються. При помилковому спарюванні двох ланцюгів ДНК утворюється "вічко", яке потім розщеплюється одноланцюговими нуклеазами. Потім продукти поділяють за розміром, наприклад, за допомогою ВЕРХ. [Див. також роботу МакКаллум і співавт. "Цілеспрямований скринінг на індуковані мутації"; Nat Biotechnol. 2000, квітень; 18(4): 455-7 і МакКаллум і співавт. "Таргетування індукованих локальних уражень в геномах (TILLING) для функціональної геноміки рослин"; Plant Physiol. 2000, червень; 123(2):439-42].

Використовуваний в цьому документі термін "гомозигота" стосується окремої клітини або рослини, що має однакові алелі щонайменше в одному або у всіх локусах. Коли цей термін використовується стосовно певного локусу або гену, це означає щонайменше що локус або ген мають одні й ті ж алелі. Використовуваний в цьому документі термін "гомозиготний" означає генетичний стан, що існує, якщо ідентичні алелі знаходяться у відповідних локусах на гомологічних хромосомах. Використовуваний в цьому документі термін "гетерозигота" стосується окремої клітини або рослини, що має різні алелі щонайменше в одному або у всіх локусах. Коли цей термін використовується стосовно певного локусу або гену, це означає, щонайменше що локус або ген мають різні алелі. Використовуваний в цьому документі термін "гетерозиготний" означає генетичний стан, що існує, якщо різні алелі знаходяться у відповідних локусах на гомологічних хромосомах. У певних варіантах здійснення цього винаходу гаплотип і/або щонайменше один маркер, як описано в цьому документі, є гомозиготним. У певних варіантах здійснення цього винаходу гаплотип і/або щонайменше один маркер, як описано в цьому документі, є гетерозиготним. У певних варіантах здійснення цього винаходу алель гаплотипу і/або щонайменше один алель маркера, як описано в цьому документі, є гомозиготним. У певних варіантах здійснення цього винаходу, алель гаплотипу і/або щонайменше один алель маркера, як описано в цьому документі, є гетерозиготним.

Використовуваний в цьому документі термін "ідентичність послідовності" стосується ступеня ідентичності між будь-якої такою послідовністю нуклеїнової кислоти і цілеспрямованої послідовності нуклеїнової кислоти. Відсоток ідентичності послідовностей обчислюють шляхом визначення кількості збіжних положень у вирівняних послідовностях нуклеїнової кислоти, ділення кількості збіжних положень на загальну кількість вирівняних нуклеотидів, і множення на 100. Збіжне положення стосується положення, в якому ідентичні нуклеотиди зустрічаються в одному і тому ж положенні в вирівняних послідовностях нуклеїнової кислоти. Відсоток ідентичності послідовності також може бути визначений для будь-якої амінокислотної послідовності. Для визначення відсотка ідентичності послідовності, цілеспрямовану послідовність нуклеїнової кислоти або амінокислоти порівнюють з ідентифікованою послідовністю нуклеїнової кислоти або амінокислоти із застосуванням програми BLAST 2 Sequences (BL2seq) з автономної версії BLASTZ, що містить BLASTN і BLASTP. Цю автономну версію BLASTZ можна отримати з [веб-сайту Fish & Richardson [Всесвітня павутина за адресою fr.com/blast] або з веб-сайту Національного центру біотехнологічної інформації уряду США [Всесвітня павутина за адресою ncbi.nlm.nih.gov]]. Інструкції, що пояснюють, як використовувати програму BL2seq, можна знайти у файлі readme, що додається до BLASTZ. BL2seq виконує порівняння між двома послідовностями із застосуванням алгоритму BLASTN або BLASTP.

BLASTN використовується для порівняння послідовностей нуклеїнових кислот, тоді як BLASTP використовується для порівняння амінокислотних послідовностей. Для порівняння двох послідовностей нуклеїнової кислоти, параметри встановлюються наступним чином: - і встановлюється в файл, що містить першу порівнювану послідовність нуклеїнової кислоти (наприклад, C:\seq1.txt); - j встановлюється у файл, що містить другу послідовність нуклеїнової кислоти, що підлягає порівнянню (наприклад, C:\seq2.txt); - p встановлюється на blastn; - o у файл з будь-яким бажаним ім'ям (наприклад, C:\output.txt); - q встановлюється на -1; - r встановлюється на 2; а для всіх інших параметрів залишаються їхні значення, встановлені за замовчуванням. Наступна команда буде генерувати вихідний файл, що містить порівняння двох послідовностей: C:\BL2seq-i c:\seq1.txt-j c:\seq2.txt-p blastn-o c:\output.txt-q-1-r 2. Якщо послідовність-мішень має гомологію з будь-якою ділянкою ідентифікованої послідовності, то спеціальний вихідний файл буде представляти ті області гомології як вирівняні послідовності. Якщо послідовність-мішень не має загальної гомології з будь-якою частиною ідентифікованої послідовності, то в спеціальному вихідному файлі не будуть представлені вирівняні послідовності. Після вирівнювання визначають довжину шляхом підрахунку кількості послідовних нуклеотидів з послідовності-мішені, що представлена у вирівнюванні з послідовністю з ідентифікованої послідовності, починаючи з будь-якого збіжного положення і закінчуючи будь-яким іншим збіжним положенням. Збіжне положення являє собою будь-яке положення, в якому ідентичний нуклеотид представлений як в послідовності-мішені, так і в ідентифікованій послідовності. Гепи, представлені в послідовності-мішені, не враховуються, оскільки гепи не є нуклеотидами. Аналогічним чином, гепи, представлені в ідентифікованій послідовності, не враховуються, оскільки враховуються нуклеотиди послідовності-мішені, а не нуклеотиди з ідентифікованої послідовності. Відсоток ідентичності за конкретною довжиною визначають шляхом підрахунку кількості збіжних положень по цій довжині і ділення цієї кількості на довжину, а потім множення отриманого значення на 100. Наприклад, якщо (i) послідовність-мішень нуклеїнової кислоти з 500 основами порівнюють з розглянутою послідовністю нуклеїнової кислоти, (ii) програма BL2seq представляє 200 основ з послідовності-мішені, що вирівняна з областю розглянутої послідовності, де перша і остання основа цієї області з 200 основ збігаються, і (iii) кількість збігів за цих 200 вирівняних основ дорівнює 180, то послідовність-мішень нуклеїнової кислоти з 500

основами має довжину 200, а ідентичність послідовності по цій довжині становить 90 % (тобто, $180/200 \times 100 = 90$). Слід розуміти, що різні області в межах однієї послідовності-мішені нуклеїнової кислоти, яка вирівнюється з ідентифікованою послідовністю, кожна може мати свій власний відсоток ідентичності. Слід зазначити, що значення відсотка ідентичності округлюють до найближчої десятої частки. Наприклад, 78,11, 78,12, 78,13 і 78,14 округлюють до 78,1, а 78,15, 78,16, 78,17, 78,18 і 78,19 округлюють до 78,2. Також слід зазначити, що значення довжини завжди буде цілим числом.

Термін "послідовність", при використанні в цьому документі, стосується нуклеотидної послідовності (послідовностей), полінуклеотиду (полінуклеотидів), послідовності (послідовностей) нуклеїнової кислоти, нуклеїнової кислоти (кислот), молекули нуклеїнової кислоти, пептидів, поліпептидів і білків, залежно від контексту, в якому використовується термін "послідовність". Терміни "нуклеотидна послідовність (послідовності)", "полінуклеотид (полінуклеотиди)", "послідовність (послідовності) нуклеїнової кислоти", "нуклеїнова кислота (кислоти)", "молекула нуклеїнової кислоти", "полінуклеїнова кислота (кислоти)", використовуються в цьому документі взаємозамінно і стосуються нуклеотидів, або рибонуклеотидів, або дезоксирибонуклеотидів, або їхні комбінації в полімерній нерозгалуженій формі будь-якої довжини. Послідовності нуклеїнової кислоти включають ДНК, кДНК, геномну ДНК, РНК, синтетичні форми і змішані полімери, як смислові, так і антисмислові ланцюги, або вони можуть містити ненатуральні або дериватизовані нуклеотидні основи, що буде цілком зрозуміло фахівцям у цій галузі техніки.

"Виділена послідовність нуклеїнової кислоти" або "виділена ДНК" стосується послідовності нуклеїнової кислоти, яка більше не знаходиться в природному середовищі, з якого вона була, наприклад, послідовність нуклеїнової кислоти в бактеріальній клітині-хазяїні або в ядерному, або пластидному геномі рослини. При згадці в цьому документі "послідовності", мається на увазі, що мається на увазі молекула, що має таку послідовність, наприклад, молекула нуклеїнової кислоти. "Клітина-хазяїн", або "рекомбінантна клітина-хазяїн", або "трансформована клітина" є термінами, що стосуються нової окремої клітини (або організму), що виникає в результаті введення в зазначену клітину щонайменше однієї молекули нуклеїнової кислоти. Клітина-хазяїн переважно являє собою рослинну клітину або бактеріальну клітину. Клітина-хазяїн може містити нуклеїнову кислоту у вигляді молекули, що позахромосомно (епісомально) реплікується, або вона містить нуклеїнову кислоту, що інтегрована в ядерний або пластидний геном клітини-хазяїна, або у вигляді введеної хромосоми, наприклад, мініхромосоми.

Коли наводиться посилання на послідовність нуклеїнової кислоти (наприклад, ДНК або геномну ДНК), яка має "суттєву ідентичність послідовності" еталонної послідовності, або яка має ідентичність послідовності, що становить щонайменше 80 % >, наприклад, щонайменше 85 %, 90 %, 95 %, 98 % > або 99 % > ідентичність послідовності нуклеїнової кислоти еталонної послідовності, в одному варіанті здійснення цього винаходу, згадана нуклеотидна послідовність вважається по суті ідентичною цій нуклеотидній послідовності, і може бути ідентифікована із застосуванням жорстких умов гібридизації. В іншому варіанті здійснення цього винаходу послідовність нуклеїнової кислоти містить щонайменше одну мутацію, в порівнянні з цією послідовністю нуклеотидів, але все ж вона може бути ідентифікована із застосуванням жорстких умов гібридизації. "Жорсткі умови гібридизації" можуть бути використані для ідентифікації нуклеотидних послідовностей, які по суті ідентичні цій нуклеотидній послідовності. Жорсткі умови залежать від послідовності і будуть відрізнятися в різних обставинах. Здебільшого, жорсткі умови вибирають примірно на 5 °C нижче, ніж термічна температура плавлення (T_m) для конкретних послідовностей за певною іонною силою і рН. T_m являє собою температуру (за певною іонною силою та рН), при якій 50 % послідовності-мішені гібридизується з ідеально збігаючимся зондом. Здебільшого, обирають жорсткі умови, за яких концентрація солі становить примірно 0,02 моляра при рН 7, а температура становить щонайменше 60 °C. Зниження концентрації солі і/або підвищення температури підвищує жорсткість. Жорсткими умовами гібридизації РНК-ДНК (Нозерн-блоти із застосуванням зонда з, наприклад, 100 нуклеотидів) є, наприклад, умови, які включають щонайменше одну промивку в 0,2 X SSC (розчин цитрату та хлориду натрію) при температурі 63 °C протягом 20 хвилин, або еквівалентні умови. Жорсткими умовами гібридизації ДНК-ДНК (Саузерн-блоти із застосуванням зонда з, наприклад, 100 нуклеотидів) є, наприклад, умови, які включають щонайменше одну промивку (зазвичай 2) в 0,2 X SSC при температурі щонайменше 50 °C, зазвичай примірно 55 °C, протягом 20 хв або еквівалентні умови. Див. також Сембрук і співавт. (1989) і Сембрук і Расселл (2001).

При використанні в цьому документі, термін "поліпептид" або "білок" (обидва терміни використовуються в цьому документі взаємозамінно) означає пептид, білок або поліпептид, який охоплює амінокислотні ланцюги певної довжини, при цьому, амінокислотні залишки зчеплені ковалентними пептидними зв'язками. Однак пептидоміметіки таких білків/поліпептидів, при цьому, амінокислота (амінокислоти) і/або пептидний зв'язок (зв'язки) були замінені функціональними аналогами, також охоплюються цим винаходом, а також інші амінокислоти, відмінні 20 амінокислот, кодованих генами, такі як селеноцистеїн. Пептиди, олігопептиди і білки можуть бути названі поліпептидами. Термін "поліпептид" також стосується, і не виключає, модифікацій поліпептиду, наприклад, глікозилювання, ацетилювання, фосфорилювання тощо. Такі модифікації добре описані в основних документах і в більш докладних монографіях, а також в дослідницькій літературі.

Амінокислотні заміни охоплюють зміни амінокислот, при яких амінокислота замінюється іншим амінокислотним залишком, що зустрічається в природі. Такі заміни можуть бути класифіковані як "консервативні <1>", при яких амінокислотний залишок, що міститься в білку дикого типу, замінений іншою амінокислотою аналогічного характеру, що зустрічається в природі, наприклад Gly<->Ala, Val<->Ile<->Leu, Asp<->Glu, Lys<->Arg, Asn<->Gln або Phe<->Trp<->Tyr. Заміни, що охоплюються цим винаходом, також можуть бути "неконсервативними", при яких амінокислотний залишок, який присутній в білку дикого типу, замінений амінокислотою з іншими властивостями, такої як амінокислота з іншої групи, що зустрічається в природі, (наприклад, заміна зарядженої або гідрофобної амінокислоти кислоти аланіном). Термін "подібні амінокислоти", в контексті цього документа, стосуються амінокислот, які мають подібні бічні ланцюги амінокислот, тобто,

амінокислот, які мають полярні, неполярні або практично нейтральні бічні ланцюги. Термін "не подібні амінокислоти", в контексті цього документа, стосується амінокислот, які мають різні бічні ланцюги амінокислот, наприклад, амінокислота з полярним бічним ланцюгом, не схожа з амінокислотою з неполярним бічним ланцюгом. Полярні бічні ланцюги зазвичай мають тенденцію бути присутніми на поверхні білка, де вони можуть взаємодіяти з водним середовищем, що знаходиться в клітинах ("гідрофільні" амінокислоти). З іншого боку, "неполярні" амінокислоти, здебільшого, знаходяться в центрі білка, де вони можуть взаємодіяти з подібними неполярними сусідами ("гідрофобні амінокислоти"). Прикладами амінокислот, що мають полярні бічні ланцюги, є аргінін, аспарагін, аспартат, цистеїн, глутамін, глутамат, гістидин, лізин, серин і треонін (всі гідрофільні, за винятком цистеїну, який є гідрофобним). Прикладами амінокислот, які мають неполярні бічні ланцюги, є аланін, гліцин, ізолейцин, лейцин, метіонін, фенілаланін, пролін і триптофан (всі гідрофобні, за винятком гліцину, який є нейтральним).

Термін "ген", використовуваний в цьому документі, стосується полімерної форми нуклеотидів будь-якої довжини, або рибонуклеотидів, або дезоксирибонуклеотидів. Цей термін включає дво- і одноланцюгові ДНК і РНК. Він також включає відомі типи модифікацій, наприклад, метилювання, "кепи", заміни щонайменше одного з нуклеотидів, що зустрічаються в природі, аналогом. Переважно ген містить кодуючу послідовність, що кодує певний в цьому документі поліпептид. "Кодуюча послідовність" являє собою нуклеотидну послідовність, яка транскрибується в мРНК і/або транслюється в поліпептид при розміщенні або під контролем відповідних регуляторних послідовностей. Межі кодуючої послідовності визначаються початковим кодоном трансляції на 5'-кінці і стоп-кодоном трансляції на 3'-кінці. Кодуюча послідовність може включати, але цим не обмежується, мРНК, кДНК, послідовності рекомбінантних нуклеїнових кислот або геному ДНК, в той час як інтрони також можуть бути присутніми за певних обставин.

Використовуваний в цьому документі термін "ендогенний" стосується гену або алелю, який присутній в його природному розташуванні в геномі. Термін "ендогенний" може використовуватися взаємозамінно з терміном "нативний". Це, однак, не виключає присутності щонайменше однієї відмінності нуклеїнової кислоти від алелю дикого типу. У конкретних варіантах здійснення цього винаходу, відміна від алеля дикого типу може бути обмежена менше 9, переважно менше 6, більш конкретно, менше 3 відмінностями нуклеотидів, наприклад, відмінністю в 0 нуклеотидів. Більш конкретно, відмінність від послідовності дикого типу може полягати тільки в одному нуклеотиді. Переважно ендогенний алель кодує модифікований білок, що має менше 9, переважно менше 6, більш конкретно, менше 3 і навіть, більш переважно тільки одну відмінність або відсутність відмінності амінокислоти від білка дикого типу.

Використовуваний в цьому документі термін "екзогенний полінуклеотид" стосується полінуклеотиду, такого як ген (або кДНК) або алель, який є або був рекомбінантно введений в клітину (або рослину). Екзогенний полінуклеотид може бути епісомально або геномно інтегрованим. Інтеграція може бути випадковою або сайт-спрямованою. Інтеграція може включати заміну відповідного ендогенного полінуклеотиду. Слід розуміти, що екзогенний полінуклеотид природним чином не присутній в клітині або рослині.

Використовуваний в цьому документі B73 еталонний геном AGPv4 стосується складання B73 RefGen_v4 (також відомої як AGPv4, B73 RefGen_v4), як зазначено в базі даних генетики і геноміки кукурудзи ([https://www.maizegdb.org/genome/genome_assembly/B73 %20RefGen_v2](https://www.maizegdb.org/genome/genome_assembly/B73%20RefGen_v2)).

Використовуваний в цьому документі B73 еталонний геном AGPv4 (або AGPv04) стосується складання B73 RefGen_v4 (також відомої як AGPv4, B73 RefGen_v4), як зазначено в базі даних генетики і геноміки кукурудзи (https://www.maizegdb.org/genome/genome_assembly/Zm-B73-REFERENCE-GRAMENE-4.0).

Способи скринінгу на присутність полінуклеїнової кислоти за цим винаходом або (молекулярного) маркеру (маркерів) (алелів), як описано в цьому документі, відомі в цій галузі техніки. Без обмежень, скринінг може охоплювати або містити секвенування, методи на основі гібридизації (такі як (динамічна) алель-специфічна гібридизація, молекулярні маяки, SNP на мікрочіпах), методи на основі ферментів (такі як ПЛР, KASP (конкретна алель-специфічна ПЛР), RFLP, ALFP, RAPD, флєп-ендонуклеаза, подовження праймера, 5'-нуклеаза, кількісний аналіз олігонуклеотидної лігази), методи постампліфікації на основі фізичних властивостей ДНК (як-от одноланцюговий конформаційний поліморфізм, гель-електрофорез в температурному градієнті, денатуруюча високоєфективна рідинна хроматографія, плавлення з високою роздільною здатністю всього амплікону білків, що зв'язують помилково спарені ДНК, SNPlex (платформа для генотипування SNP), сюрвеєрський кількісний аналіз нуклеази) тощо.

Використовувані в цьому документі терміни "підвищена толерантність до патогену" і "підвищена стійкість до патогену" стосуються будь-якого полегшення, зменшення вияву, поліпшення, або до будь-якої їхньої комбінації будь-якого симптому (такого як пошкодження або втрата біомаси) при зараженні патогеном. Підвищена стійкість або толерантність до патогену, які згадані в цьому документі, можуть також стосуватися здатності, з якою рослина підтримує, наприклад, продукування своєю біомаси (як-от продукування придатної для збирання біомаси, як-от врожайність насіння) після або під час зараження патогеном. Стійка до патогену або толерантна рослина, рослинна клітина або частина рослини можуть належати в цьому документі до рослини, рослинній клітині або частини рослини, відповідно, що має підвищену стійкість/толерантність до патогену, в порівнянні з батьківською рослиною, з якої вони отримані (наприклад, що не містить гаплотип або щонайменше один молекулярний маркер (алель), або полінуклеїнової кислоти за цим винаходом, як описано в цьому документі). Стійкість може стосуватися в цьому документі здатності рослини обмежувати розмноження патогена. Толерантність може стосуватися в цьому документі здатності рослини знижувати вплив інфекції на її пристосованість незалежно від рівня розмноження патогена. Способи визначення стійкості/толерантності до патогену відомі фахівцям у цій галузі техніки, такі як візуальна оцінка інфікування патогеном або патоген-індукованого пошкодження, визначення біомаси (врожайності) тощо. Використовувані в цьому документі терміни "підвищена толерантність до патогену" і "підвищена стійкість до патогену" можуть використовуватися взаємозамінно з термінами "знижена чутливість" або "знижена сприйнятливості" до патогенів. Відповідно, рослина, частина рослини або популяція рослини за цим

винаходом, яка є більш стійкою або більш толерантною до патогену, вважаються менш чутливими до такого патогену. Термін "менш чутливий" або "менш сприйнятливий", при використанні в цьому документі, може розглядатися як "більш толерантний" або "більш стійкий". Аналогічним чином, термін "більш толерантний" або "більш стійкий" може, навпаки, розглядатися як "менш чутливий" або "менш сприйнятливий". Термін "більш чутливий" або "більш сприйнятливий", коли використовується в цьому документі, може, навпаки, розглядатися як "менш толерантний" або "менш стійкий". Аналогічним чином, термін "менш толерантний" або "менш стійкий" може, навпаки, розглядатися як "більш чутливий" або "більш сприйнятливий".

За допомогою прикладу, і без обмеження, підвищення стійкості або толерантності до патогену може бути оцінено на основі кількох критеріїв, таких як (патогенні) симптоми, які, наприклад, можуть бути класифіковані згідно з наведеною нижче Таблицею.

Схема класифікації в балах для експериментів з фенотипування в польових випробуваннях в різних місцях з природною та штучною іночуляцією *H. turcicum* [(від Deutsche Maiskomitee (DMK, Німецький комітет з кукурудзи); сорт AG 27.02.02; DMK J. Rath; RP Freiburg H.J. Imgraben)]

Класифікаційний бал	Фенотип
1	Рослина не виявляє симптомів захворювання, 0 %
2	Початок зараження, видно перші невеликі плями (менше 2 см). Уражено менше 5 % поверхні листа
3	Деякі плями розвинулися на стадії листа. Уражено 5-10 % поверхні листа.
4	Уражено 10-20 % поверхні листа. Виразно видно плями на кількох стадіях листа.
5	Уражено 20-40 % поверхні листа. Плями починають зливатися.
6	Уражено 40-60 % поверхні листа. Системне зараження, видиме на листі.
7	Уражено 60-80 % поверхні листа. Приблизно половина листа знищена або висохла через грибкове зараження.
8	Уражено 80-90 % поверхні листа. Більш половини листа знищена або висохла через грибкове зараження.
9	Уражено 90-100 % поверхні листа. Рослини майже повністю висохли.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, підвищена стійкість або толерантність до патогену тягне за собою нижчий класифікаційний бал у порівнянні з рослиною, позбавленою підвищеної стійкості або толерантності, такий як щонайменше один, щонайменше два, щонайменше три, щонайменше чотири, щонайменше п'ять класів класифікаційних очок або балів.

Як зазначено в цьому документі, полінуклеїнова кислота за цим винаходом, як описано в цьому документі, вважається фланкованою певними молекулярними маркерами або алелями молекулярних маркерів, якщо полінуклеїнова кислота міститься в полінуклеїновій кислоті, при цьому, відповідно, перший маркер (алель) розташований вище (тобто на 5') згаданої полінуклеїнової кислоти, а другий маркер (алель) розташований нижче (тобто на 3') згаданої полінуклеїнової кислоти. Такі перший і другий маркери (алелі) можуть межувати з полінуклеїновою кислотою. Нуклеїнова кислота може так само містити такий перший і другий маркер (алель), наприклад, відповідно, на 5' і 3'-кінці або поблизу них, наприклад, відповідно, в межах 50 кб від 5'- і 3'-кінця, переважно, в межах 10 кб від 5'- і 3'-кінця, наприклад, в межах 5 кб від 5'- і 3'-кінця, в межах 1 кб від 5'- і 3'-кінця або менше.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, введення (в геном), як зазначено в цьому документі, містить трансгенез.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, введення (в геном), як зазначено в цьому документі, містить трансформацію.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, введення (в геном), як зазначено в цьому документі, містить рекомбінацію, таку як гомологічна рекомбінація.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, введення (в геном), як зазначено в цьому документі, містить мутагенез.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, введення (в геном), як зазначено в цьому документі, містить інтрогресію. У певних варіантах здійснення введення в геном, як зазначено в цьому документі, містить інтрогресію.

У певних варіантах здійснення введення в геном, як зазначено в цьому документі, містить введення в геном в часті рослини. У певних варіантах здійснення цього винаходу, частина рослини являє собою орган рослини. У певних варіантах здійснення цього винаходу, частина рослини являє собою рослинну тканину. У певних варіантах здійснення цього винаходу, частина рослини являє собою рослинну клітину. У певних варіантах здійснення цього винаходу, частина рослини являє собою протопласт.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, введення в геном, як зазначено в цьому документі, містить введення в геном *in vitro*. У певних варіантах здійснення цього винаходу, введення в геном, як зазначено в цьому документі, містить введення в геном *in vivo*.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, спосіб генерування рослини кукурудзи або частини рослини, такої як рослина кукурудзи або частина рослини, що має (підвищену) стійкість і/або толерантність до патогену, містить трансформацію рослини або частини рослини, переважно рослинної клітини, або рослинної тканини, більш переважно протопласту, за допомогою полінуклеїнової кислоти, як описано в іншому місці цього документа, і, необов'язково, регенерацію зі згаданої рослинної клітини або переважно з протопласту.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, трансформована рослина або частина рослини не містить ендогенної полінуклеїнової кислоти за цим винаходом, як описано в цьому документі.

У певних варіантах здійснення цього винаходу трансформована рослина або частина рослини не містить ендогенно щонайменше один молекулярний маркер (алель) за цим винаходом, як описано в цьому документі.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, способи отримання або генерування рослин, або частин рослин, як описано в цьому документі, за цим винаходом, включають або містять трансгенез і/або редагування генів, як-от включення CRISPR/Cas, TALEN, ZFN, мегануклеази; (індукований) мутагенез, який може або не може бути випадковим мутагенезом, таким як TILLING.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, способи отримання рослин або частин рослин, описані в цьому документі, за цим винаходом, не включають або не містять трансгенез, редагування генів і/або мутагенез.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, способи отримання рослин або частин рослин, як описано в цьому документі, за цим винаходом, включають, містять або складаються з селекції і/або відбору.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, способи отримання рослин або частин рослин, як описано в цьому документі, за цим винаходом, не включають, не містять або не складаються з селекції.

В одному аспекті, цей винахід стосується рослини кукурудзи або частини рослини, отриманої або отримуваної способами за цим винаходом, як описано в цьому документі, такими як способи ідентифікації рослини кукурудзи або частини рослини, або способи генерування рослини кукурудзи або частини рослини. Цей винахід також стосується потомства таких рослин.

В одному аспекті, цей винахід стосується рослини кукурудзи або частини рослини, що містить полінуклеїнову кислоту за цим винаходом, як описано в цьому документі. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота є гомозиготною. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота є гетерозиготною.

В одному аспекті, цей винахід стосується рослини кукурудзи або частини рослини, що містить будь-який, щонайменше один молекулярний маркер (алель) за цим винаходом, як описано в цьому документі. У певних варіантах здійснення цього винаходу, молекулярний маркер (алель) є гомозиготним. У певних варіантах здійснення цього винаходу, молекулярний маркер (алель) є гетерозиготним.

У деяких варіантах здійснення цього винаходу рослина кукурудзи або її частина не зустрічається в природі. У певних варіантах здійснення цього винаходу, рослина кукурудзи або частина рослини не є рослиною кукурудзи або частиною рослини, розкритої в [WO 2019/038326].

У певних варіантах здійснення цього винаходу, рослина або частина рослини містить щонайменше один молекулярний маркер (алель) вище (тобто на 5') гена RLK1, і щонайменше один молекулярний маркер (алель) нижче (т.е., на 3') гена RLK1.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота не містить щонайменше один (що надає стійкість, або HT2, або HT3) молекулярний маркер (алель) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 та MA0025, як описано у цьому документі в іншому місці. У певних варіантах здійснення цього винаходу, рослина або частина рослини містить щонайменше один з молекулярних маркерів (алелів) вище (тобто на 5') гена RLK1, і щонайменше один з молекулярних маркерів (алелів) нижче (т.е., на 3') гена RLK1.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, рослина кукурудзи не є сортом кукурудзи. У певних варіантах здійснення цього винаходу рослину не отримують виключно за допомогою по суті біологічного процесу. У певних варіантах здійснення цього винаходу, рослину отримують способом, який містить щонайменше один етап, відмінний від схрещування, тобто, скринінг на присутність полінуклеотиду, як описано в цьому документі.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, рослина кукурудзи або частина рослини є трансгенною, з редагованими генами або піддана мутагенезу. У певних варіантах здійснення цього винаходу, рослина кукурудзи або частина рослини є трансгенною, з редагованими генами або піддана мутагенезу для того, щоб містити щонайменше один молекулярний маркер (алель), або щонайменше одну полінуклеїнову кислоту за цим винаходом, як описано у цьому документі.

Як описано в цьому документі в іншому місці, у певних варіантах здійснення цього винаходу, така рослина кукурудзи або частина рослини не містить ендогенно зазначені полінуклеїнові кислоти.

В одному аспекті, цей винахід стосується (виділеної) полінуклеїнової кислоти, що містить щонайменше один молекулярний маркер (алель) за цим винаходом, як описано в цьому документі.

В одному аспекті, цей винахід стосується (виділеної) полінуклеїнової кислоти, що містить щонайменше один молекулярний маркер (алель) за цим винаходом, як описано в цьому документі, або його комплемент, або зворотний комплемент.

У певних варіантах здійснення цей винахід стосується (виділеної) полінуклеїнової кислоти, що містить або специфічно гібридується з молекулярним маркером (алелем) MA0045, його комплементом або зворотним комплементом. У певних варіантах здійснення, винахід стосується (виділеної) полінуклеїнової кислоти, що містить або специфічно гібридується з молекулярним маркером (алелем) MA0062, його комплементом або зворотним комплементом. У певних варіантах здійснення цей винахід стосується (виділеної) полінуклеїнової кислоти, що містить або специфічно гібридується з молекулярним маркером (алелем) MA0063, його комплементом або зворотним комплементом. У певних варіантах здійснення цей винахід стосується (виділеної) полінуклеїнової кислоти, що містить або специфічно гібридується з молекулярним маркером (алелем) MA0070, його комплементом або зворотним комплементом. У певних варіантах здійснення цей винахід стосується (виділеної) полінуклеїнової кислоти, що містить або специфічно гібридується з молекулярним маркером (алелем) MA0071, його комплементом або зворотним комплементом. У певних варіантах здійснення цей винахід стосується (виділеної) полінуклеїнової кислоти, що містить або специфічно гібридується з молекулярним маркером (алелем) MA0064, його комплементом або зворотним комплементом. У певних варіантах здійснення цей винахід стосується (виділеної) полінуклеїнової кислоти, що містить або специфічно гібридується з молекулярним маркером (алелем) PZE-108095339, його комплементом або зворотним комплементом. У певних варіантах здійснення цей винахід стосується (виділеної) полінуклеїнової кислоти, що містить або специфічно гібридується

У певних варіантах здійснення полінуклієнова кислота містить (або специфічно гібридується з полінуклієною кислотою, що має), щонайменше одне положення, що відповідає положенням в еталонному геномі кукурудзи В73 (в хромосомі 8) AGPv04, як зазначено в Таблиці нижче.

Назва маркера	Положення AGPv04	Алень НТ2/НТ3	Альтернативний алель
Affx-91328160	156372823	G	A
PZE-108095339	156378424	G	A
MA0064	156541890	C	T
MA0063	156543061	T	C
MA0070	156694565	T	G
MA0071	156694641	C	T
MA0062	156772431	G	T
MA0045	156789751	A	C

Нуклеотиди (SNP) у положеннях, зазначених для алелю HT2/HT3, дозволяють проводити скринінг або ідентифікацію фенотипу стійкості за цим винаходом. Нуклеотиди (SNP) у положеннях, зазначених для альтернативного алелю, дозволяють проводити скринінг або ідентифікувати фенотип без стійкості. Слід розуміти, що для ідентифікації алелю без стійкості, зазначених нуклеотидів SNP можуть відрізнятися від зазначених у Таблиці (за умови, що вони відрізняються від нуклеотидів SNP, зазначених для алелю HT2/HT3).

[illegible]

У певних варіантах здійснення, цей винахід стосується (виділеної) полінуклеїнової кислоти, що містить або специфічно гібридизується з молекулярним маркером (алелем) MA0045 і щонайменше з 15, переважно щонайменше з 17 нуклеотидами вище і/або нижче (що відносяться до відповідних нуклеотидів хромосоми 8 геному кукурудзи B73 AGPv04), його комплементом або зворотним комплементом. У певних варіантах здійснення, цей винахід стосується (виділеної) полінуклеїнової кислоти, що містить або специфічно гібридизується з молекулярним маркером (алелем) MA0062 і щонайменше з 15, переважно щонайменше з 17 нуклеотидами вище і/або нижче (що відносяться до відповідних нуклеотидів хромосоми 8 геному кукурудзи B73 AGPv04), його комплементом або зворотним комплементом. У певних варіантах здійснення, цей винахід стосується (виділеної) полінуклеїнової кислоти, що містить або специфічно гібридизується з молекулярним маркером (алелем) MA0063 і щонайменше з 15, переважно щонайменше з 17 нуклеотидами вище і/або нижче (що відносяться до відповідних нуклеотидів хромосоми 8 геному кукурудзи B73 AGPv04), його комплементом або зворотним комплементом. У певних варіантах здійснення, цей винахід стосується (виділеної) полінуклеїнової кислоти, що містить або специфічно гібридизується з молекулярним маркером (алелем) MA0070 і щонайменше з 15, переважно щонайменше з 17 нуклеотидами вище і/або нижче (що відносяться до відповідних нуклеотидів хромосоми 8 геному кукурудзи B73 AGPv04), його комплементом або зворотним комплементом. У певних варіантах здійснення, цей винахід стосується (виділеної) полінуклеїнової кислоти, що містить або специфічно гібридизується з молекулярним маркером (алелем) MA0071 і щонайменше з 15, переважно щонайменше з 17 нуклеотидами вище і/або нижче (що відносяться до відповідних нуклеотидів хромосоми 8 геному кукурудзи B73 AGPv04), його комплементом або зворотним комплементом. У певних варіантах здійснення, цей винахід стосується (виділеної) полінуклеїнової кислоти, що містить або специфічно гібридизується з молекулярним маркером (алелем) MA0064 і

щонайменше з 15, переважно щонайменше з 17 нуклеотидами вище і/або нижче (що відносяться до відповідних нуклеотидів хромосоми 8 геному кукурудзи B73 AGPv04), його комплементом або зворотним комплементом. У певних варіантах здійснення, цей винахід стосується (виділеної) полінуклеїнової кислоти, що містить або специфічно гібридується з молекулярним маркером (алелем) PZE-108095339 і щонайменше з 15, переважно щонайменше з 17 нуклеотидами вище і/або нижче (що відносяться до відповідних нуклеотидів хромосоми 8 геному кукурудзи B73 AGPv04), його комплементом або зворотним комплементом. У певних варіантах здійснення, цей винахід стосується (виділеної) полінуклеїнової кислоти, що містить або специфічно гібридується з молекулярним маркером (алелем) Affx-91328160 і щонайменше з 15, переважно щонайменше з 17 нуклеотидами вище і/або нижче (що відносяться до відповідних нуклеотидів хромосоми 8 геному кукурудзи B73 AGPv04), його комплементом або зворотним комплементом.

У певних варіантах здійснення, цей винахід стосується (виділеної) полінуклеїнової кислоти, що містить або специфічно гібридується з фрагментом геномного інтервалу хромосоми 8 *Zea mays* між молекулярними маркерами PZE-108092843 і PZA-003182005, і що містить молекулярний маркер (алель) MA0045 або комплемент, або зворотний комплемент фрагменту. У певних варіантах здійснення, цей винахід стосується (виділеної) полінуклеїнової кислоти, що містить або специфічно гібридується з фрагментом геномного інтервалу хромосоми 8 *Zea mays* між молекулярними маркерами PZE-108092843 і PZA-003182005, і що містить молекулярний маркер (алель) MA0062 або комплемент, або зворотний комплемент фрагменту. У певних варіантах здійснення, цей винахід стосується (виділеної) полінуклеїнової кислоти, що містить або специфічно гібридується з фрагментом геномного інтервалу хромосоми 8 *Zea mays* між молекулярними маркерами PZE-108092843 і PZA-003182005, і що містить молекулярний маркер (алель) MA0063 або комплемент, або зворотний комплемент фрагменту. У певних варіантах здійснення, цей винахід стосується (виділеної) полінуклеїнової кислоти, що містить або специфічно гібридується з фрагментом геномного інтервалу хромосоми 8 *Zea mays* між молекулярними маркерами PZE-108092843 і PZA-003182005, і що містить молекулярний маркер (алель) MA0070 або комплемент, або зворотний комплемент фрагменту. У певних варіантах здійснення, цей винахід стосується (виділеної) полінуклеїнової кислоти, що містить або специфічно гібридується з фрагментом геномного інтервалу хромосоми 8 *Zea mays* між молекулярними маркерами PZE-108092843 і PZA-003182005, і що містить молекулярний маркер (алель) MA0071 або комплемент, або зворотний комплемент фрагменту. У певних варіантах здійснення, цей винахід стосується (виділеної) полінуклеїнової кислоти, що містить або специфічно гібридується з фрагментом геномного інтервалу хромосоми 8 *Zea mays* між молекулярними маркерами PZE-108092843 і PZA-003182005, і що містить молекулярний маркер (алель) MA0064 або комплемент, або зворотний комплемент фрагменту. У певних варіантах здійснення, цей винахід стосується (виділеної) полінуклеїнової кислоти, що містить або специфічно гібридується з фрагментом геномного інтервалу хромосоми 8 *Zea mays* між молекулярними маркерами PZE-108092843 і PZA-003182005, і що містить молекулярний маркер (алель) Affx-91328160 або комплемент, або зворотний комплемент фрагменту. У певних варіантах здійснення, цей винахід стосується (виділеної) полінуклеїнової кислоти, що містить або специфічно гібридується з фрагментом геномного інтервалу хромосоми 8 *Zea mays* між молекулярними маркерами PZE-108092843 і PZA-003182005, і що містить молекулярний маркер (алель) PZE-108095339 або комплемент, або зворотний комплемент фрагменту.

Слід розуміти, що полінуклеїнові кислоти за цим винаходом містять або специфічно гібридизуються щонайменше з одним (НТ2/НТ3 або альтернативним) молекулярним маркером (алелем) і додатковими 5' і/або 3' суміжними нуклеотидами (природними), що фланкують відповідний маркер (алель) (або його комплемент, або зворотний комплемент). У цьому контексті, кількість фланкуючих нуклеотидів може, у певних варіантах здійснення цього винаходу, становити щонайменше 14 або 15 нуклеотидів (які можуть або не можуть бути повністю 5' або повністю 3' фланкуючими нуклеотидами, як-от, наприклад, 5 3' фланкуючих нуклеотидів плюс 10 5' фланкуючих нуклеотидів). У певних варіантах здійснення цього винаходу молекулярний маркер (алель) за цим винаходом (або його комплемент) є найбільш 5' нуклеотидом полінуклеїнової кислоти. У певних варіантах здійснення цього винаходу молекулярний маркер (алель) за цим винаходом (або його комплемент) є другим 5' нуклеотидом полінуклеїнової кислоти. У певних варіантах здійснення цього винаходу молекулярний маркер (алель) за цим винаходом (або його комплемент) є третім найбільш 5' нуклеотидом полінуклеїнової кислоти. У певних варіантах здійснення цього винаходу молекулярний маркер (алель) за цим винаходом (або його комплемент) є найбільш 3' нуклеотидом полінуклеїнової кислоти. У певних варіантах здійснення цього винаходу молекулярний маркер (алель) за цим винаходом (або його комплемент) є другим 3' нуклеотидом полінуклеїнової кислоти. У певних варіантах здійснення цього винаходу молекулярний маркер (алель) за цим винаходом (або його комплемент) є третім найбільш 3' нуклеотидом полінуклеїнової кислоти.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота містить щонайменше 15 нуклеотидів, наприклад, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 або 25 нуклеотидів, наприклад, щонайменше 30, 35, 40, 45 або 50 нуклеотидів, наприклад, щонайменше 100, 200, 300 або 500 нуклеотидів.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота містить максимально 1500 нуклеотидів, наприклад, 1200, 1000, 800, 600, 400, 200 нуклеотидів, наприклад, максимально 100, 80, 60, 50, 40 або 30 нуклеотидів.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота містить щонайменше 15 нуклеотидів, наприклад, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 або 25 нуклеотидів, наприклад, щонайменше 30, 35, 40, 45 або 50 нуклеотидів, наприклад, щонайменше 100, 200, 300 або 500 нуклеотидів, і полінуклеїнова кислота містить максимально 1500 нуклеотидів, наприклад, 1200, 1000, 800, 600, 400, 200 нуклеотидів, наприклад, максимально 100, 80, 60, 50, 40 або 30 нуклеотидів.

У певних варіантах здійснення цього винаходу (виділений) полінуклеотид має довжину в діапазоні від 15 до 500 нуклеотидів, переважно від 15 до 100 нуклеотидів, переважно від 15 до 50 нуклеотидів, більш переважно від 15 до 35 нуклеотидів.

У певних варіантах здійснення цього винаходу (виділений) полінуклеотид являє собою праймер або зонд.

У певних варіантах здійснення цього винаходу (виділений) полінуклеотид являє собою алель-специфічний праймер або зонд.

У певних варіантах здійснення цього винаходу (виділений) полінуклеотид являє собою праймер KASP (конкурентна алель-специфічна ПЛР). Праймери (KASP) добре відомі в цій галузі техніки і можуть бути сконструйовані фахівцем у цій галузі техніки згідно з відомими критеріями. За допомогою додаткових вказівок і без обмежень KASP виконують щонайменше з двома алель-специфічними праймерами (які можуть бути прямими праймерами) і, як правило, одним загальним праймером (який може бути зворотним праймером). Алель-специфічні праймери зазвичай мають подовжені хвостові послідовності (у яких для кожного алель-специфічного праймера надана інша хвостова послідовність). Хвостові послідовності дозволяють включати флуоресцентно мічену комплементарну послідовність, щоб тим самим флуоресцентно розрізняти різні алелі.

У певних варіантах здійснення цього винаходу довжина хвостової послідовності входить у загальну довжину праймера. У певних варіантах здійснення цього винаходу довжина хвостової послідовності не входить у загальну довжину праймера.

У певних варіантах здійснення цього винаходу полінуклеїнова кислота являє собою (ПЛР) праймер або (гібридаційний) зонд. У певних варіантах здійснення цього винаходу полінуклеїнова кислота являє собою алель-специфічний праймер або зонд. У певних варіантах здійснення цього винаходу полінуклеїнова кислота являє собою праймер KASP.

В одному аспекті, цей винахід стосується (виділеної) полінуклеїнової кислоти, що містить (молекулярний) маркер (алель) за цим винаходом, або комплемент, або зворотний комплемент (молекулярного) маркера (алелю) за цим винаходом. У певних варіантах здійснення, цей винахід стосується полінуклеїнової кислоти, що містить щонайменше 10 суміжних нуклеотидів, переважно щонайменше 15 суміжних нуклеотидів або щонайменше 20 суміжних нуклеотидів (молекулярного) маркера (алелю) за цим винаходом, або комплемент, або зворотний комплемент (молекулярного) маркера (алелю) за цим винаходом. У певних варіантах здійснення цього винаходу полінуклеїнова кислота здатна розпізнавати (молекулярний) маркер (алель) за цим винаходом і алель немоллекулярного маркера, наприклад, специфічно гібридизуватися з (молекулярним) маркерним алелем за цим винаходом. У певних варіантах здійснення цього винаходу полінуклеїнова кислота або її комплемент або зворотний комплемент (по суті) не гібридується з (геномної) ДНК, що походить з інбредної лінії кукурудзи B73, або не зв'язується з нею. У певних варіантах здійснення цього винаходу, послідовність полінуклеїнової кислоти або її комплемент або зворотний комплемент не зустрічається або не присутній в інбредній лінії кукурудзи B73.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота містить послідовність, представлену в будь-якому з SEQ ID NO: 4-51, її комплемент або зворотний комплемент. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота складається по суті з послідовності, представлені в будь-якому з SEQ ID NO: 4-51, її комплементу або зворотного комплементу. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота складається з послідовності, представлені в будь-якому з SEQ ID NO: 4-51, її комплементу або зворотного комплементу. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота містить фрагмент, що має щонайменше 15 найбільш 3' суміжних нуклеотидів послідовності, представлені в будь-якому з SEQ ID NO: 4-51, її комплемент або зворотний комплемент. У певних варіантах здійснення полінуклеїнова кислота складається по суті з фрагмента, що має щонайменше 15 найбільш 3' суміжних нуклеотидів послідовності, представлені в будь-якому з SEQ ID NO: 4-51, її комплементу або зворотного комплементу. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота містить фрагмент, що має щонайменше 15 найбільш 3' суміжних нуклеотидів послідовності, представлені в будь-якому з SEQ ID NO: 4-51, її комплемент або зворотний комплемент.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота містить послідовність, представлену в будь-якому SEQ ID NO: 4, 5, 7, 8, 10, 11, 13, 14, 16, 17, 19, 20, 40, 41, 43 або 44, її комплемент або зворотний комплемент. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота складається по суті з послідовності, представлені в будь-якому з SEQ ID NO: 4, 5, 7, 8, 10, 11, 13, 14, 16, 17, 19, 20, 40, 41, 43 або 44, її комплементу або зворотного комплементу. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота складається з послідовності, представлені в будь-якому з SEQ ID NO: 4, 5, 7, 8, 10, 11, 13, 14, 16, 17, 19, 20, 40, 41, 43 або 44, її комплементу або зворотного комплементу. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота містить фрагмент, що має щонайменше 15 найбільш 3' суміжних нуклеотидів послідовності, представлені в будь-якому з SEQ ID NO: 4, 5, 7, 8, 10, 11, 13, 14, 16, 17, 19, 20, 40, 41, 43 або 44, її комплемент або зворотний комплемент. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота складається по суті з фрагмента, що має щонайменше 15 найбільш 3' суміжних нуклеотидів послідовності, представлені в будь-якому з SEQ ID NO: 4, 5, 7, 8, 10, 11, 13, 14, 16, 17, 19, 20, 40, 41, 43 або 44, її комплементу або зворотного комплементу. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота складається з фрагмента, що має щонайменше 15 найбільш 3' суміжних нуклеотидів послідовності, представлені в будь-якому з SEQ ID NO: 4, 5, 7, 8, 10, 11, 13, 14, 16, 17, 19, 20, 40, 41, 43 або 44, її комплементу або зворотного комплементу.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота містить послідовність, представлену в будь-якому з SEQ ID NO: 22, 23, 25, 26, 28, 29, 31, 32, 34, 35, 37, 38, 46, 47, 49 або 50, її комплемент чи зворотний комплемент. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота складається по суті з послідовності, представлені в будь-якому з SEQ ID NO: 22, 23, 25, 26, 28, 29, 31, 32, 34, 35, 37, 38, 46, 47, 49 або 50, її комплементу або зворотного комплементу. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота містить послідовність, представлену в будь-якому з SEQ ID NO: 22, 23, 25, 26, 28, 29, 31, 32, 34, 35, 37, 38, 46, 47, 49 або 50, її комплемент чи зворотний комплемент. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота містить фрагмент, що має щонайменше 15 найбільш 3' суміжних нуклеотидів послідовності, представлені в будь-якому з SEQ ID NO: 22, 23, 25, 26, 28, 29, 31, 32, 34, 35, 37, 38, 46, 47, 49 або 50, її комплемент або зворотний комплемент. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова

кислота складається по суті з фрагмента, що має щонайменше 15 найбільш 3' суміжних нуклеотидів послідовності, представленої в будь-якому з SEQ ID NO: 22, 23, 25, 26, 28, 29, 31, 32, 34, 35, 37, 38, 46, 47, 49 або 50, її комплементу або зворотного комплементу. У певних варіантах здійснення цього винаходу, полінуклеїнова кислота складається з фрагмента, що має щонайменше 15 найбільш 3' суміжних нуклеотидів послідовності, представленої в будь-якому з SEQ ID NO: 22, 23, 25, 26, 28, 29, 31, 32, 34, 35, 37, 38, 46, 47, 49 або 50, її комплементу або зворотного комплементу.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, набір полінуклеотидів містить полінуклеотид, що містить, що складається по суті або що складається з послідовності, яка представлена в SEQ ID NO: 4, і полінуклеотид, що містить, що складається по суті або що складається з послідовності, яка представлена в SEQ ID NO: 5, який необов'язково додатково містить полінуклеотид, що містить, що складається по суті або складається з послідовності, яка представлена в SEQ ID NO: 6; або (а) його фрагмент (фрагменти), що містить щонайменше 15 найбільш 3' суміжних його нуклеотидів, його комплемент або зворотний комплемент. [варіант здійснення цього винаходу А]

У певних варіантах здійснення цього винаходу, набір полінуклеотидів містить полінуклеотид, що містить, що складається по суті або що складається з послідовності, яка представлена в SEQ ID NO: 7, і полінуклеотид, що містить, що складається по суті або що складається з послідовності, яка представлена в SEQ ID NO: 8, який необов'язково додатково містить полінуклеотид, що містить, що складається по суті або складається з послідовності, яка представлена в SEQ ID NO: 9; або (а) його фрагмент (фрагменти), що містить щонайменше 15 найбільш 3' суміжних його нуклеотидів, його комплемент або зворотний комплемент. [варіант здійснення цього винаходу С]

У певних варіантах здійснення цього винаходу, набір полінуклеотидів містить полінуклеотид, що містить, що складається по суті або що складається з послідовності, яка представлена в SEQ ID NO: 10, і полінуклеотид, що містить, що складається по суті або що складається з послідовності, яка представлена в SEQ ID NO: 11, який необов'язково додатково містить полінуклеотид, що містить, що складається по суті або складається з послідовності, яка представлена в SEQ ID NO: 12; або (а) його фрагмент (фрагменти), що містить щонайменше 15 найбільш 3' суміжних його нуклеотидів, його комплемент або зворотний комплемент. [варіант здійснення цього винаходу E]

У певних варіантах здійснення цього винаходу, набір полінуклеотидів містить полінуклеотид, що містить, що складається по суті або що складається з послідовності, яка представлена в SEQ ID NO: 13, і полінуклеотид, що містить, що складається по суті або що складається з послідовності, яка представлена в SEQ ID NO: 14, який необов'язково додатково містить полінуклеотид, що містить, що складається по суті або складається з послідовності, яка представлена в SEQ ID NO: 15; або (а) його фрагмент (фрагменти), що містить щонайменше 15 найбільш 3' суміжних його нуклеотидів, його комплемент або зворотний комплемент. [варіант здійснення цього винаходу G]

У певних варіантах здійснення цього винаходу, набір полінуклеотидів містить полінуклеотид, що містить, що

У певних варіантах здійснення цього винаходу набір полінуклеотидів містить один або комбінацію з наступних варіантів здійснення: [A], [C], [E], [G], [I], [K], [M], [O], [A, C], [A, E], [A, G], [A, I], [A, K], [A, M], [A, O], [C, E], [C, G], [C, I], [C, K], [C, M], [C, O], [E, G], [E, I], [E, K], [E, M], [E, O], [G, I], [G, K], [G, M], [G, O], [I, K], [I, M], [I, O], [K, M], [K, O], [M, O], [A, C, E], [A, C, G], [A, C, I], [A, C, K], [A, C, M], [A, C, O], [A, E, G], [A, E, I], [A, E, K], [A, E, M], [A, E, O], [A, G, I], [A, G, K], [A, G, M], [A, G, O], [A, I, K], [A, I, M], [A, I, O], [A, K, M], [A, K, O], [A, M, O], [C, E, G], [C, E, I], [C, E, K], [C, E, M], [C, E, O], [C, G, I], [C, G, K], [C, G, M], [C, G, O], [C, I, K], [C, I, M], [C, I, O], [C, K, M], [C, K, O], [C, M, O], [E, G, I], [E, G, K], [E, G, M], [E, G, O], [E, I, K], [E, I, M], [E, I, O], [E, K, M], [E, K, O], [E, M, O], [G, I, K], [G, I, M], [G, I, O], [G, K, M], [G, K, O], [G, M, O], [I, K, M], [I, K, O], [I, M, O], [K, M, O], [A, C, E, G], [A, C, E, I], [A, C, E, K], [A, C, E, M], [A, C, E, O], [A, C, G, I], [A, C, G, K], [A, C, G, M], [A, C, G, O], [A, C, I, K], [A, C, I, M], [A, C, I, O], [A, C, K, M], [A, C, K, O], [A, C, M, O], [A, E, G, I], [A, E, G, K], [A, E, G, M], [A, E, G, O], [A, E, I, K], [A, E, I, M], [A, E, I, O], [A, E, K, M], [A, E, K, O], [A, E, M, O], [A, G, I, K], [A, G, I, M], [A, G, I, O], [A, G, K, M], [A, G, K, O], [A, G, M, O], [A, I, K, M], [A, I, K, O], [A, I, M, O].

У певних варіантах здійснення цього винаходу, набір поліпунклеотидів містить один або комбінацію з наступних варіантів здійснення: [B], [D], [F], [H], [J], [L], [N], [P], [B, D], [B, F], [B, H], [B, J], [B, L], [B, N], [B, P], [D, F], [D, H], [D, J], [D, L], [D, N], [D, P], [F, H], [F, J], [F, L], [F, N], [F, P], [H, J], [H, L], [H, N], [H, P], [J, L], [J, N], [J, P], [L, N], [L, P], [N, P], [B, D, F], [B, D, H], [B, D, J], [B, D, L], [B, D, N], [B, D, P], [B, F, H], [B, F, J], [B, F, L], [B, F, N], [B, F, P], [B, H, J], [B, H, L], [B, H, N], [B, H, P], [B, J, L], [B, J, N], [B, J, P], [B, L, N], [B, L, P], [B, N, P], [D, F, H], [D, F, J], [D, F, L], [D, F, N], [D, F, P], [D, H, J], [D, H, L], [D, H, N], [D, H, P], [D, J, L], [D, J, N], [D, J, P], [D, L, N], [D, L, P], [D, N, P], [D, N, P], [F, H, L], [F, H, N], [F, H, P], [F, J, L], [F, J, N], [F, J, P], [F, L, N], [F, L, P], [F, N, P], [H, J, L], [H, J, N], [H, J, P], [H, L, N], [H, L, P], [H, N, P], [J, L, N], [J, L, P], [J, N, P], [L, N, P], [B, D, F, H], [B, D, F, J], [B, D, F, L], [B, D, F, N], [B, D, F, P], [B, D, H, J], [B, D, H, L], [B, D, H, N], [B, D, H, P], [B, D, J, L], [B, D, J, N], [B, D, J, P], [B, D, L, N], [B, D, L, P], [B, D, N, P], [B, F, H, J], [B, F, H, L], [B, F, H, N], [B, F, H, P], [B, F, J, L], [B, F, J, N], [B, F, J, P], [B, F, L, N], [B, F, L, P], [B, F, N, P], [B, H, J, L], [B, H, J, N], [B, H, J, P], [B, H, L, N], [B, H, L, P], [B, H, N, P], [B, J, L, N], [B, J, L, P], [B, J, N, P], [B, L, N, P], [D, F, H, J], [D, F, H, L], [D, F, H, N], [D, F, H, P], [D, F, J, L], [D, F, J, N], [D, F, J, P], [D, F, L, N], [D, F, L, P], [D, F, N, P], [D, H, J, L], [D, H, J, N], [D, H, J, P], [D, H, L, N], [D, H, L, P], [D, H, N, P], [D, J, L, N], [D, J, L, P], [D, J, N, P], [D, L, N, P], [F, H, J, L], [F, H, J, N], [F, H, J, P], [F, H, L, N], [F, H, L, P], [F, H, N, P], [F, J, L, N], [F, J, L, P], [F, J, N, P], [F, L, N, P], [H, J, L, N], [H, J, L, P], [H, J, N, P], [H, L, N, P], [J, L, N, P], [B, D, F, H, J], [B, D, F, H, L], [B, D, F, H, N], [B, D, F, H, P], [B, D, F, J, L], [B, D, F, J, N], [B, D, F, J, P], [B, D, F, L, N], [B, D, F, L, P], [B, D, F, N, P], [B, D, H, J, L], [B, D, H, J, N], [B, D, H, J, P], [B, D, H, L, N], [B, D, H, L, P], [B, D, H, N, P], [B, D, J, L, N], [B, D, J, L, P], [B, D, J, N, P], [B, D, L, N, P], [B, F, H, J, L], [B, F, H, J, N], [B, F, H, J, P], [B, F, H, L, N], [B, F, H, L, P], [B, F, H, N, P], [B, F, J, L, N], [B, F, J, L, P], [B, F, J, N, P], [B, F, L, N, P], [B, F, L, P], [B, F, N, P], [B, H, J, L, N], [B, H, J, L, P], [B, H, J, N, P], [B, H, L, N, P], [B, H, L, P], [B, H, N, P], [B, J, L, N, P], [B, J, L, P], [B, J, N, P], [B, L, N, P], [D, F, H, J, L], [D, F, H, J, N], [D, F, H, J, P], [D, F, H, L, N], [D, F, H, L, P], [D, F, H, N, P], [D, F, J, L, N], [D, F, J, L, P], [D, F, J, N, P], [D, F, L, N, P], [D, F, L, P], [D, F, N, P], [D, H, J, L, N], [D, H, J, L, P], [D, H, J, N, P], [D, H, L, N, P], [D, H, L, P], [D, H, N, P], [D, J, L, N, P], [D, J, L, P], [D, J, N, P], [F, H, J, L, N], [F, H, J, L, P], [F, H, J, N, P], [F, H, L, N, P], [F, H, L, P], [F, J, L, N, P], [F, J, L, P], [H, J, L, N, P], [H, J, L, P], [H, J, N, P], [H, L, N, P], [J, L, N, P], [B, D, F, H, J, L], [B, D, F, H, J, N], [B, D, F, H, J, P], [B, D, F, H, L, N], [B, D, F, H, L, P], [B, D, F, H, N, P], [B, D, F, J, L, N], [B, D, F, J, L, P], [B, D, F, J, N, P], [B, D, F, L, N, P], [B, D, H, J, L, N], [B, D, H, J, L, P], [B, D, H, J, N, P], [B, D, H, L, N, P], [B, D, J, L, N, P], [B, F, H, J, L, N], [B, F, H, J, L, P], [B, F, H, J, N, P], [B, F, H, L, N, P], [B, F, J, L, N, P], [B, H, J, L, N, P], [D, F, H, J, L, N], [D, F, H, J, L, P], [D, F, H, J, N, P], [D, F, H, L, N, P], [D, F, J, L, N, P], [D, H, J, L, N, P], [F, H, J, L, N, P], [B, D, F, H, J, L, N], [B, D, F, H, J, L, P], [B, D, F, H, J, N, P], [B, D, F, H, L, N, P], [B, D, F, J, L, N, P], [B, D, H, J, L, N, P], [B, F, H, J, L, N, P], [D, F, H, J, L, N, P], [D, F, H, J, L, P], [D, F, H, J, N, P], [D, F, H, L, N, P], [D, F, J, L, N, P], [D, H, J, L, N, P], [F, H, J, L, N, P], [B, D, F, H, J, L, N], [B, D, F, H, J, L, P], [B, D, F, H, J, N, P], [B, D, F, H, L, N, P], [B, D, F, J, L, N, P], [B, D, H, J, L, N, P], [B, F, H, J, L, N, P], [D, F, H, J, L, N, P], [D, F, H, J, L, P], [D, F, H, J, N, P], [D, F, H, L, N, P], [D, F, J, L, N, P], [D, H, J, L, N, P], [F, H, J, L, N, P], [B, D, F, H, J, L, N], [B, D, F, H, J, L, P], [B, D, F, H, J, N, P], [B, D, F, H, L, N, P], [B, D, F, J, L, N, P], [B, D, H, J, L, N, P], [B, F, H, J, L, N, P], [D, F, H, J, L, N, P], [D, F, H, J, L, P], [D, F, H, J, N, P], [D, F, H, L, N, P], [D, F, J, L, N, P], [D, H, J, L, N, P], [F, H, J, L, N, P], [B, D, F, H, J, L, N], [B, D, F, H, J, L, P], [B, D, F, H, J, N, P], [B, D, F, H, L, N, P], [B, D, F, J, L, N, P], [B, D, H, J, L, N, P], [B, F, H, J, L, N, P], [D, F, H, J, L, N, P], [D, F, H, J, L, P], [D, F, H, J, N, P], [D, F, H, L, N, P], [D, F, J, L, N, P], [D, H, J, L, N, P], [F, H, J, L, N, P], [B, D, F, H, J, L, N], [B, D, F, H, J, L, P], [B, D, F, H, J, N, P], [B, D, F, H, L, N, P], [B, D, F, J, L, N, P], [B, D, H, J, L, N, P], [B, F, H, J, L, N, P], [D, F, H, J, L, N, P], [D, F, H, J, L, P], [D, F, H, J, N, P], [D, F, H, L, N, P], [D, F, J, L, N, P], [D, H, J, L, N, P], [F, H, J, L, N, P], [B, D, F, H, J, L, N], [B, D, F, H, J, L, P], [B, D, F, H, J, N, P], [B, D, F, H, L, N, P], [B, D, F, J, L, N, P], [B, D, H, J, L, N, P], [B, F, H, J, L, N, P], [D, F, H, J, L, N, P], [D, F, H, J, L, P], [D, F, H, J, N, P], [D, F, H, L, N, P], [D, F, J, L, N, P], [D, H, J, L, N, P], [F, H, J, L, N, P], [B, D, F, H, J, L, N], [B, D, F, H, J, L, P], [B, D, F, H, J, N, P], [B, D, F, H, L, N, P], [B, D, F, J, L, N, P], [B, D, H, J, L, N, P], [B, F, H, J, L, N, P], [D, F, H, J, L, N, P], [D, F, H, J, L, P], [D, F, H, J, N, P], [D, F, H, L, N, P], [D, F, J, L, N, P], [D, H, J, L, N, P], [F, H, J, L, N, P], [B, D, F, H, J, L, N], [B, D, F, H, J, L, P], [B, D, F, H, J, N, P], [B, D, F, H, L, N, P], [B, D, F, J, L, N, P], [B, D, H, J, L, N, P], [B, F, H, J, L, N, P], [D, F, H, J, L, N, P], [D, F, H, J, L, P], [D, F, H, J, N, P], [D, F, H, L, N, P], [D, F, J, L, N, P], [D, H, J, L, N, P], [F, H, J, L, N, P], [B, D, F, H, J, L, N], [B, D, F, H, J, L, P], [B, D, F, H, J, N, P], [B, D, F, H, L, N, P], [B, D, F, J, L, N, P], [B, D, H, J, L, N, P], [B, F, H, J, L, N, P], [D, F, H, J, L, N, P], [D, F, H, J, L, P],

У певних варіантах здійснення цього винаходу, виділений поліуклеотид містить щонайменше

- R у положенні 21 SEQ ID NO: 53, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' 5' нуклеотиду;

- Y у положенні 21 SEQ ID NO: 55, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотид;

- М у положенні 21 SEQ ID NO: 57, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотиду;

- у положенні 31 SEQ ID NO: 59, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотид.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, виділений полінуклеотид містить щонайменше

- G у положенні 21 SEQ ID NO: 52, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотид;
- G у положенні 21 SEQ ID NO: 53, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотид;
- C у положенні 21 SEQ ID NO: 54, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотид;
- C у положенні 21 SEQ ID NO: 55, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотид;
- G у положенні 21 SEQ ID NO: 56, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотид;
- A у положенні 21 SEQ ID NO: 57, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотид;
- G у положенні 31 SEQ ID NO: 58, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотид; або
- C у положенні 31 SEQ ID NO: 59, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотид.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, виділений полінуклеотид містить щонайменше

- A у положенні 21 SEQ ID NO: 52, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотид;
- A у положенні 21 SEQ ID NO: 53, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотид;
- T у положенні 21 SEQ ID NO: 54, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотид;
- T у положенні 21 SEQ ID NO: 55, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотид;
- T у положенні 21 SEQ ID NO: 56, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотид;
- C у положенні 21 SEQ ID NO: 57, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотид;
- T у положенні 31 SEQ ID NO: 58, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотид; або
- T у положенні 31 SEQ ID NO: 59, переважно як найбільш 3' або 5', 2-й найбільш 3' або 5', або 3-й найбільш 3' або 5' нуклеотид.

Такі полінуклеотиди можуть бути використані для виявлення алелю HT2/HT3 або, як альтернативний варіант, алелю, відмінного від HT2/HT3, такого як алель B73.

В одному аспекті цей винахід стосується набору, що містить щонайменше один полінуклеотид, як описано в цьому документі, такий як щонайменше один праймер або зонд, як описано в цьому документі. Фахівець у цій галузі техніки зрозуміє, що полінуклеотиди можуть міститися, наприклад, в одній посудині, такий як один флакон, або в окремих посудинах, таких як окремі флакони.

Слід розуміти, що "специфічна гібридизація" означає, що полінуклеїнова кислота гібридується з (молекулярним) маркерним алелем (наприклад, у жорстких умовах гібридизації, як визначено в цьому документі в іншому місці), але (по суті) не гібридується з полінуклеїною кислотою, яка не містить маркерний алель, або (по суті) не здатна використовуватися як праймер ПЛР. Наприклад, у придатному зчитуванні, сигнал гібридизації з маркерним алелем або ПЛР-ампліфікацією маркерного алелю, щонайменше в 5 разів, переважно щонайменше в 10 разів сильніше або більше, ніж сигнал гібридизації з немаркерним алелем або з будь-якої іншої послідовністю.

У певних варіантах здійснення цього винаходу (виділена) полінуклеїнова кислота являє собою (виділену) полінуклеїнову кислоту, яка не розкрита у [WO 2019/038326].

В одному аспекті цей винахід стосується набору праймерів або зондів, як описано вище, таких як набір алель-специфічних праймерів або зондів. У певних варіантах здійснення цього винаходу, набір може додатково містити (загальний) прямий або зворотний праймер (залежно від того, чи є алель-специфічні праймери зворотними або прямими праймерами).

В одному аспекті, цей винахід стосується набору, що містить такі полінуклеїнові кислоти, як, наприклад, праймери (які містять цямі (такі як, щонайменше один алель-специфічний або, в альтернативному варіанті, загальний праймер) і/або зворотні праймери (такі як загальний або, в альтернативному варіанті, щонайменше один алель-специфічний праймер)), і/або зонди (наприклад, щонайменше один алель-специфічний зонд). Набір може додатково містити інструкції з використання.

Слід розуміти, що у варіантах здійснення цього винаходу, які стосуються набору прямих і зворотних праймерів, може знадобитися, щоб тільки один з обох праймерів (прямий або зворотний) був здатний розпізнавати (молекулярний) маркерний алель за цим винаходом та немаркерний алель і, отже, він може бути унікальним. Інший праймер може або не може бути здатний розпізнавати (молекулярний) маркерний алель за цим винаходом і немаркерний алель і, отже, він може бути унікальним.

В одному аспекті, цей винахід стосується вектору, що містить (виділену) полінуклеїнову кислоту за цим винаходом, як описано в цьому документі. У певних варіантах здійснення цього винаходу, вектор являє собою вектор експресії (рослини). У певних варіантах здійснення цього винаходу, вектор являє собою індукцйбельний вектор експресії (рослини). У певних варіантах здійснення цього винаходу, експресія є тканиноспецифічною або органоспецифічною. У певних варіантах здійснення цього винаходу експресія є специфічною в процесі розвитку. У певних варіантах здійснення цього винаходу експресія є тканеспецифічною або органоспецифічною і

специфічною в процесі розвитку.

Використовуваний в цьому документі термін "вектор" має своє звичайне значення у цій галузі техніки і може, наприклад, являти собою плазмиду, космиду, бактеріофаг або вектор експресії, що трансформує вектор, човниковий вектор або клонуючий вектор; він може бути дво- або одноланцюговим, лінійним або кільцевим; або він може трансформувати прокаріотичного або еукаріотичного хазяїна, або шляхом інтеграції в його геном, або внехромосомно. Нуклеїнова кислота за цим винаходом, переважно функціонально зчеплена в векторі щонайменше з однієї регуляторної послідовністю, яка забезпечує транскрипцію і, необов'язково, експресію в прокаріотичної або еукаріотичної клітині-хазяїні. Регуляторна послідовність, переважно ДНК, може бути гомологічною або гетерологічною стосовно нуклеїнової кислоти за цим винаходом. Наприклад, нуклеїнова кислота знаходиться під контролем придатного промотора або термінатора. Придатними промоторами можуть бути промотори, які індуковані конститутивно (приклад: промотор 35S з "Вірусу мозаїки цвітної капусти" [Оделл і співавт., 1985]; особливо придатні ті промотори, які є тканинспецифічними [приклад: Пилцеспецифічні промотори, Чен і співавт. (2010), Чжао і співавт. (2006), або Твелл і співавт. (1991)], або є специфічними для розвитку (приклад: промотори, специфічні для цвітіння). Придатні промотори також можуть бути синтетичними або химерними промоторами, які не зустрічаються в природі, складаються з безлічі елементів і містять мінімальний промотор, а також - вище мінімального промотора - щонайменше один цис-регуляторний елемент, який служить місцем зв'язування для спеціальних факторів транскрипції. Химерні промотори можуть бути сконструйовані відповідно до бажаної специфіки, і вони можуть бути індуковані або репресовані різними факторами. Приклади таких промоторів можна знайти в роботі Гурра і Раштона (2005) або Вентера (2007). Наприклад, придатним термінатором є термінатор нопалин-синтази [Депікер і співавт., 1982]. Вектор може бути введений шляхом кон'югації, мобілізації, біолістичної трансформації, трансформації, опосередкованої агробактеріями, трансфекції, трансдукції, вакуумної інфільтрації або електропорації. Вектор може являти собою плазмиду, космиду, бактеріофаг або вектор експресії, вектор трансформації, човниковий вектор або вектор клонування; він може бути дво- або одноланцюговим, лінійним або кільцевим. Вектор може трансформувати прокаріотичного або еукаріотичного хазяїна, або шляхом інтеграції в його геном, або позахромосомно.

Використовуваний в цьому документі термін "функціонально зчеплений" означає з'єднані в загальній молекулі нуклеїнової кислоти таким чином, що з'єднані елементи розташовані і орієнтовані відносно один одного таким чином, що може відбуватися транскрипція молекули нуклеїнової кислоти. ДНК, яка функціонально зчеплена з промотором, знаходиться під транскрипційним контролем цього промотора.

В одному аспекті, цей винахід стосується використання полінуклеїнової кислоти або вектора за цим винаходом, як описано в цьому документі, для генерування рослини кукурудзи або частини рослини, такої як, рослина кукурудзи або частина рослини, що має підвищену стійкість і/або толерантність до патогену.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, вектор являє собою вектор експресії. Нуклеїнова кислота переважно функціонально зчеплена в векторі щонайменше з однієї регуляторної послідовністю, яка забезпечує транскрипцію і, необов'язково, експресію в прокаріотичної або еукаріотичної клітині-хазяїні. Регуляторна послідовність може бути гомологічною або гетерологічною стосовно нуклеїнової кислоти. Наприклад, нуклеїнова кислота знаходиться під контролем придатного промотора або термінатора. Придатними промоторами можуть бути промотори, які конститутивно індуковані, наприклад, промотор 35S з "Вірусу мозаїки цвітної капусти" [Оделл і співавт., 1985. Ідентифікація послідовностей ДНК, необхідних для активності промотору 35S вірусу мозаїки цвітної капусти]. Тканинно-специфічні промотори, наприклад, пилцеспецифічні промотори, як описано в роботі в Чен і співавт. [2010. *Molecular Biology Reports* 37 (2): 737-744], Чжао і співавт. (2006. *Planta* 224(2): 405-412), або Твелл і співавт. (1991. *Genes & Development* 5(3): 496-507)], особливо придатні, як і промотори, специфічні в процеси розвитку, наприклад, промотори, специфічні для цвітіння. Придатні промотори також можуть бути синтетичними або химерними промоторами, які не зустрічаються в природі, і які складаються з безлічі елементів. Такий синтетичний або химерний промотор може містити мінімальний промотор, а також щонайменше один цис-регуляторний елемент, який служить місцем зв'язування для спеціальних факторів транскрипції. Химерні промотори можуть бути сконструйовані відповідно до бажаної специфіки, і вони можуть бути індуковані або репресовані різними факторами. Приклади таких промоторів можна знайти в роботі [Гурра і Раштона (2005). Тенденції в біотехнології 23(6): 275-282] або Вентера [2007. Тенденції в рослинництві: 12(3):, 118-124]. Наприклад, придатним термінатором є термінатор нопалин-синтази [Депікер і співавт., 1982. *Journal of Molecular and Applied Genetics* 1(6): 561-573].

У певних варіантах здійснення цього винаходу, вектор являє собою вектор умовної експресії. У певних варіантах здійснення цього винаходу, вектор являє собою вектор конститутивної експресії. У певних варіантах здійснення цього винаходу, вектор являє собою вектор тканинно-специфічної експресії, такий як, вектор пилцеспецифічної експресії. У певних варіантах здійснення цього винаходу, вектор являє собою вектор індукційної експресії. Всі такі вектори добре відомі в цій галузі техніки.

Способи отримання описаних векторів є звичайними для фахівця в цій галузі техніки [Сембрук і співавт., 2001].

Також тут передбачена клітина-хазяїн, така як, рослинна клітина, яка містить нуклеїнову кислоту, як описано в цьому документі, переважно, нуклеїнову кислоту, що стимулює індукцію, або нуклеїнову кислоту, що кодує дволанцюгову РНК, як описано в цьому документі, або вектор, як описано в цьому документі. Клітина-хазяїн може містити нуклеїнову кислоту у вигляді молекули, що позахромосомно (епісомально) реплікується, або вона містить нуклеїнову кислоту, що інтегрована в ядерний або пластидний геном клітини-хазяїна, або у вигляді введеної хромосоми, наприклад, мініхромосоми.

Клітина-хазяїн може бути прокаріотичною (наприклад, бактеріальною) або еукаріотичною клітиною (наприклад, рослинною клітиною або дріжджовою клітиною). Наприклад, клітиною-хазяїном може бути агробактерія, така як *Agrobacterium tumefaciens* або *Agrobacterium rhizogenes*. Переважно клітина-хазяїн являє собою рослинну клітину.

В одному аспекті цей винахід стосується використання полінуклеїнової кислоти або вектору за цим винаходом, як описано в цьому документі, для ідентифікації рослини кукурудзи або частини рослини, такої як, рослина кукурудзи або частина рослини, що має підвищену стійкість і/або толерантність до патогену.

Описана в цьому документі нуклеїнова кислота або описаний в цьому документі вектор можуть бути введені в клітину-хазяїна за допомогою добре відомих способів, які можуть залежати від обраної клітини-хазяїна, включно з, наприклад, кон'югацією, мобілізацією, біолістичної трансформацією, трансформацією, що опосередкована агробактеріями, трансфекцією, трансдукцією, вакуумної інфільтрацією або електропорацією. Зокрема, способи введення нуклеїнової кислоти або вектора в клітину агробактерії добре відомі фахівцям в цій галузі техніки і можуть включати способи кон'югації або електропорації. Також відомі способи введення нуклеїнової кислоти або вектора в рослинну клітину [Сембрук і співавт., 2001], і вони можуть включати різні способи трансформації, такі як біологічна трансформація та трансформація, опосередкована агробактеріями.

У конкретних варіантах здійснення цей винахід стосується трансгенної рослинної клітини, яка містить нуклеїнову кислоту, як описано в цьому документі, зокрема, стимулюючи індукцію нуклеїнової кислоти або нуклеїнової кислоти, що кодує дволанцюгову РНК, як описано в цьому документі, як трансген або вектор, як описано в цьому документі. В інших варіантах здійснення, цей винахід стосується трансгенної рослини або її частини, яка містить трансгенну рослинну клітину.

Наприклад, така трансгенна рослинна клітина або трансгенна рослина являє собою рослинну клітину або рослину, яка, в переважно стабільно трансформується нуклеїновою кислотою, як описано в цьому документі, зокрема, стимулює індукцію нуклеїнової кислотою або нуклеїновою кислотою, що кодує дволанцюгову РНК, як описано в цьому документі, або вектором, як описано в цьому документі.

Переважно нуклеїнова кислота в трансгенній рослинній клітині функціонально зчеплена щонайменше з однією регуляторною послідовністю, яка забезпечує транскрипцію і, необов'язково, експресію в рослинній клітині. Регуляторна послідовність може бути гомологічною або гетерологічною стосовно нуклеїнової кислоти. Загальна структура, що складається з нуклеїнової кислоти за цим винаходом і регуляторної послідовності (послідовностей), може потім являти собою трансген.

В одному аспекті цей винахід стосується використання щонайменше одного (молекулярного) маркера (алелю), описаного в цьому документі, для ідентифікації рослини або частини рослини, що має підвищену стійкість і/або толерантність до патогену. В одному аспекті цей винахід стосується використання щонайменше одного (молекулярного) маркерного алелю, описаного в цьому документі, для ідентифікації рослини або частини рослини, що має підвищену стійкість і/або толерантність до патогену.

Маркерні алелі за цим винаходом, які описані в цьому документі, можуть являти собою діагностичні маркерні алелі, які можна використовувати для ідентифікації рослин або частин рослин, що мають підвищену стійкість і/або толерантність до патогену.

В одному аспекті цей винахід стосується рослини кукурудзи або частини рослини, такої як протопласт, що містить полінуклеїнову кислоту або вектор за цим винаходом, як описано в цьому винаході.

В одному аспекті цей винахід стосується способу боротьби із зараженням патогенами рослини (популяції) кукурудзи, що містить

а) Надання (а) рослини (рослин) кукурудзи за цим винаходом, як описано в цьому документі, або вирощування з насіння (а) рослини (рослин) кукурудзи за цим винаходом, як описано в цьому документі,

б) Культивування рослини (рослин) за пунктом а) за умов зараження патогеном.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, зараження патогеном зменшене. У певних варіантах здійснення цього винаходу, симптоми патогена зменшене. У деяких варіантах здійснення цього винаходу, симптоми патогена сповільнюються. У певних варіантах здійснення цього винаходу, зараження і симптоми зменшені або сповільнюються. У певних варіантах здійснення цього винаходу, кількість поразок зменшене, наприклад, середня кількість поразок на рослину або середня кількість поразок в популяції рослин (наприклад, виражене в кількості рослин або на площу зростання, наприклад, на гектар). Зменшення кількості поразок може становити щонайменше 5 %, переважно щонайменше 10 %, більш переважно щонайменше 20 %. Уповільнення зараження патогеном або симптомів може становити щонайменше один тиждень, переважно щонайменше два тижні, більш переважно щонайменше один місяць.

Рослини, частини рослин або популяції рослин, описані в цьому документі, що мають підвищену стійкість або толерантність до патогену, можуть бути використані для боротьби із зараженням або інфікуванням патогенами. Відповідно, в одному аспекті, цей винахід стосується використання таких рослин для боротьби із зараженням або інфікуванням патогенами. Переважно зараження або інфікування патогенами контролюють шляхом зменшення зараження або інфікування патогеном, або шляхом зменшення симптомів зараження або інфікування патогеном на рівні рослини, частини рослини або популяції рослин, як описано далі нижче.

У певних варіантах здійснення цього винаходу, підвищена стійкість або толерантність можуть виявлятися як зменшення інфекції або зараження (наприклад, кількості патогенів (наприклад, на площу рослин або на біомасу рослин), розмноження (швидкості) або поширення (ступеня)/розподілу патогенів, а також швидкості поширення патогенів, наприклад, в певний час протягом сезону (зростання)) на (суб)рівні рослини (такому як, наприклад, конкретні клітини, органи або тканини, наприклад, придатні для збирання частини рослини або, наприклад, листя, живці, плоди або насіння) або на рівні популяції, наприклад, зменшення щонайменше на 5 %, переважно щонайменше на 10 %, наприклад, щонайменше на 20 %, щонайменше на 30 %, щонайменше на 40 %, щонайменше на 50 %, щонайменше на 60 %, щонайменше на 70 %, щонайменше на 80 %, щонайменше на 90 % або (примірно) на 100 %. На рівні популяції підвищена стійкість або толерантність може виявлятися як зменшення

інфекції або зараження, як описано вище, але також, наприклад, як зменшення кількості заражених рослин (або комбінація), наприклад, зменшення щонайменше на 5 %, переважно щонайменше на 10 %, наприклад, щонайменше на 20 %, щонайменше на 30 %, щонайменше на 40 %, щонайменше на 50 %, щонайменше на 60 %, щонайменше на 70 %, щонайменше на 80 %, щонайменше на 90 % або (приблизно) на 100 %. Слід розуміти, що таке зменшення інфекції або зараження може бути відносно еталонної рослини (частини) або популяції (наприклад, відповідної рослини дикого типу не за цим винаходом).

У певних варіантах здійснення цього винаходу, підвищена стійкість або толерантність можуть виявлятися як зменшення втрати біомаси або врожаю в цілому, або конкретної (придатної для збирання) частини рослини (наприклад, кількості або ваги насіння, або плодів) через зараження патогеном, або як наслідок зараження патогеном. У певних варіантах здійснення цього винаходу, стійкі або толерантні рослини виявляють втрату виробництва біомаси (наприклад, виражену в г/день або кг/га, або кг/га/день, наприклад, виражену у вигляді сухої маси, наприклад, виражену у відсотках по вазі) при зараженні патогеном, яка щонайменше на 1 %, переважно щонайменше на 2 %, наприклад, щонайменше на 3 %, щонайменше на 4 %, щонайменше на 5 %, наприклад, щонайменше на 10 %, щонайменше на 15 % або щонайменше на 20 % вище, ніж у відповідних контрольних рослин, таких як, рослини, які менш стійкі або толерантні, або рослини не за цим винаходом, як описано в цьому документі. У певних варіантах здійснення цього винаходу, стійкі або толерантні рослини виявляють виробництво біомаси (наприклад, виражену в г/день або кг/га або кг/га/день, наприклад, виражену у вигляді сухої маси, наприклад, виражену у відсотках по вазі) при зараженні патогеном, яка щонайменше на 1 %, переважно щонайменше на 2 %, наприклад, щонайменше на 3 %, щонайменше на 4 %, щонайменше на 5 %, наприклад, щонайменше на 10 %, щонайменше на 15 % або щонайменше на 20 % вище, ніж у відповідних контрольних рослин, таких як рослини, які менш стійкі або толерантні, або рослини не за цим винаходом, як описано в цьому документі.

Використовуваний в цьому документі термін "потенціал врожайності" стосується максимального врожаю, отриманому при збиранні врожаю.

В одному аспекті цей винахід стосується використання рослини кукурудзи за цим винаходом, як описано в цьому документі, для боротьби із зараженням патогеном в рослини (популяції) кукурудзи.

В одному аспекті цей винахід стосується використання рослини кукурудзи за цим винаходом, як описано в цьому документі, для збільшення врожайності (потенціалу) рослини, переважно в умовах зараження патогеном. У певних варіантах здійснення цього винаходу врожай являє собою врожай біомаси або насіння. У певних варіантах здійснення цього винаходу згадана біомаса являє собою біомасу цілої рослини або біомасу частини рослини. У певних варіантах здійснення цього винаходу згадана частина рослини являє собою тканину, орган, плід або насіння.

У певних варіантах здійснення способів цього винаходу рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота, або спосіб (скринінг) містить (скринінг на) молекулярний маркер (алель) MA0045. У певних варіантах здійснення способів цього винаходу, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота, або спосіб (скринінг) містить (скринінг на) молекулярний маркер (алель) MA0062. У певних варіантах здійснення способів цього винаходу, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота, або спосіб (скринінг) містить (скринінг на) молекулярний маркер (алель) MA0063. У певних варіантах здійснення способів цього винаходу, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота, або спосіб (скринінг) містить (скринінг на) молекулярний маркер (алель) MA0070. У певних варіантах здійснення способів цього винаходу, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота, або спосіб (скринінг) містить (скринінг на) молекулярний маркер (алель) MA0071. У певних варіантах здійснення способів цього винаходу, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота, або спосіб (скринінг) містить (скринінг на) молекулярний маркер (алель) MA0064. У певних варіантах здійснення способів цього винаходу, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота, або спосіб (скринінг) містить (скринінг на) молекулярний маркер (алель) PZE-108095339. У певних варіантах здійснення способів цього винаходу, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота, або спосіб (скринінг) містить (скринінг на) молекулярний маркер (алель) Affx-91328160.

У певних варіантах здійснення способів цього винаходу, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота, або спосіб (скринінг) містить (скринінг на) молекулярний маркер (алель) MA0045 та MA0062. У певних варіантах здійснення способів цього винаходу, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота, або спосіб (скринінг) містить (скринінг на) молекулярний маркер (алель) MA0045 та MA0063. У певних варіантах здійснення способів цього винаходу, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота, або спосіб (скринінг) містить (скринінг на) молекулярний маркер (алель) MA0045 та MA0064. У певних варіантах здійснення способів цього винаходу, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота, або спосіб (скринінг) містить (скринінг на) молекулярний маркер (алель) MA0045 та

В цьому документі, рослина або частина рослини, або поліуклеїнова кислота, або спосіб (скринінг) містить (скринінг на) молекулярний маркер (алель) MA0071 та Afxx-91328160. У певних варіантах здійснення способів цього винаходу, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), поліуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або поліуклеїнова кислота, або спосіб (скринінг) містить (скринінг на) молекулярний маркер (алель) MA0071 та MA0070.

[illegible]

У певних варіантах здійснення способів за цим винаходом, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота містить молекулярний маркер (алель) MA0045 та MA0062 і не містить будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 та MA0025. У певних варіантах здійснення способів за цим винаходом рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота містить молекулярний маркер (алель) MA0045 та MA0063 і не містить будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 та MA0025. У певних варіантах здійснення способів за цим винаходом, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота містить молекулярний маркер (алель) MA0045 та MA0070 і не містить будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 та MA0025. У певних варіантах здійснення способів за цим винаходом, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота містить молекулярний маркер (алель) MA0045 та MA0071 і не містить будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 та MA0025. У певних варіантах здійснення способів за цим винаходом, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота містить молекулярний маркер (алель) MA0045 та MA0064 і не містить будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 та MA0025. У певних варіантах здійснення способів за цим винаходом, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота містить молекулярний маркер (алель) MA0045 та PZE-10809533 і не містить будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 та

МА0064 та МА0070 і не містять будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 та MA0025. У певних варіантах здійснення способів за цим винаходом, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота містить молекулярний маркер (алель) MA0064 та MA0071 і не містить будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 та MA0025. У певних варіантах здійснення способів за цим винаходом, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота містить молекулярний маркер (алель) MA0070 та PZE-108095339 і не містить будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 та MA0025. У певних варіантах здійснення способів за цим винаходом, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота містить молекулярний маркер (алель) MA0071 та PZE-108095339 і не містить будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 та MA0025. У певних варіантах здійснення способів за цим винаходом, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота містить молекулярний маркер (алель) MA0070 та Affx-91328160 і не містить будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 та MA0025. У певних варіантах здійснення способів за цим винаходом, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота містить молекулярний маркер (алель) MA0071 та Affx-91328160 і не містить будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 та MA0025. У певних варіантах здійснення способів за цим винаходом, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота містить молекулярний маркер (алель) MA0071 та PZE-108095339 і не містить будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 та MA0025.

[illegible]

У певних варіантах здійснення способів за цим винаходом, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклейнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклейнова кислота містить молекулярний маркер (алель) MA0045, MA0062, MA0063, MA0064 та PZE-

[illegible]

MA0071, MA0045, MA0062, PZE-108095339 і Affx-91328160, і не містить будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 і MA0025. У певних варіантах здійснення способів цього винаходу, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклєїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклєїнова кислота, або спосіб (скринінг) містить (скринінг на) молекулярний маркер (алель) MA0070, MA0071, MA0045, MA0063, MA0064 і PZE-108095339, і не містить щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 та MA0025. У певних варіантах здійснення способів цього винаходу, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклєїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклєїнова кислота, або спосіб (скринінг) містить (скринінг на) молекулярний маркер (алель) MA0070, MA0071, MA0045, MA0064, PZE-108095339 і Affx-91328160, і не містить будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 і MA0025. У певних варіантах здійснення способів цього винаходу, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклєїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклєїнова кислота, або спосіб (скринінг) містить (скринінг на) молекулярний маркер (алель) MA0070, MA0071, MA0062, MA0063, MA0064 і PZE-108095339, і не містить щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 та MA0025. У певних варіантах здійснення способів цього винаходу, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклєїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклєїнова кислота, або спосіб (скринінг) містить (скринінг на) молекулярний маркер (алель) MA0070, MA0071, MA0062, MA0063, MA0064 і Affx-91328160, і не містить будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 і MA0025. У певних варіантах здійснення способів цього винаходу, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклєїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклєїнова кислота, або спосіб (скринінг) містить (скринінг на) молекулярний маркер (алель) MA0070, MA0071, MA0062, MA0064, PZE-108095339 і Affx-91328160, і не містить будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 і MA0025. У певних варіантах здійснення способів цього винаходу, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклєїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклєїнова кислота, або спосіб (скринінг) містить (скринінг на) молекулярний маркер (алель) MA0070, MA0071, MA0062, MA0064, PZE-108095339 і Affx-91328160, і не містить будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 і MA0025.

208096610, PZE-108096469, MA0043 і MA0025. У певних варіантах здійснення способів цього винаходу, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота, або спосіб (скринінг) містить (скринінг на) молекулярний маркер (алель) MA0070, MA0071, MA0062, MA0063, MA0064, PZE-108095339 і Affx-91328160, і не містить будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 і MA0025. У певних варіантах здійснення способів цього винаходу, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота, або спосіб (скринінг) містить (скринінг на) молекулярний маркер (алель) MA0070, MA0071, MA0062, MA0045, MA0064, PZE-108095339 і Affx-91328160, і не містить будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 і MA0025. У певних варіантах здійснення способів цього винаходу, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота, або спосіб (скринінг) містить (скринінг на) молекулярний маркер (алель) MA0070, MA0071, MA0062, MA0045, MA0063, PZE-108095339 і Affx-91328160, і не містить будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 і MA0025. У певних варіантах здійснення способів цього винаходу, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота, або спосіб (скринінг) містить (скринінг на) молекулярний маркер (алель) MA0070, MA0071, MA0062, MA0064 і Affx-91328160, і не містить будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 і MA0025. У певних варіантах здійснення способів цього винаходу, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота, або спосіб (скринінг) містить (скринінг на) молекулярний маркер (алель) MA0070, MA0071, MA0062, MA0045, MA0063, MA0064 і PZE-108095339, і не містить щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843, PZA-003182005, PZE-108094590, PZE-108096610, PZE-108096469, MA0043 та MA0025.

[illegible]

кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота містить молекулярний маркер (алель) MA0064 та MA0070, і не містить будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843 i/або PZA-003182005. У певних варіантах здійснення способів за цим винаходом, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота містить молекулярний маркер (алель) MA0064 та MA0071, і не містить будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843 i/або PZA-003182005. У певних варіантах здійснення способів за цим винаходом, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота містить молекулярний маркер (алель) MA0070 та PZE-108095339, і не містить будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843 i/або PZA-003182005. У певних варіантах здійснення способів за цим винаходом, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота містить молекулярний маркер (алель) MA0071 та PZE-108095339, і не містить будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843 i/або PZA-003182005. У певних варіантах здійснення способів за цим винаходом, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота містить молекулярний маркер (алель) MA0070 та Afx-91328160, і не містить будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843 i/або PZA-003182005. У певних варіантах здійснення способів за цим винаходом, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота містить молекулярний маркер (алель) MA0071 та Afx-91328160, і не містить будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843 i/або PZA-003182005. У певних варіантах здійснення способів за цим винаходом, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота містить молекулярний маркер (алель) MA0071 та Afx-91328160, і не містить будь-який щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843 i/або PZA-003182005.

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

108092843 і/або PZA-003182005. У певних варіантах здійснення способів за цим винаходом, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота, або спосіб (скринінг) містить (скринінг на) молекулярний маркер (алель) MA0070, MA0071, MA0062, MA0045, MA0063, MA0064 і PZE-108095339, і не містить щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843 і/або PZA-003182005.

У певних варіантах здійснення способів за цим винаходом, рослин (кукурудзи) (або частин рослин), полінуклеїнових кислот або способів використання, як описано в цьому документі, рослина або частина рослини, або полінуклеїнова кислота, або спосіб (скринінг) містить (скринінг на) молекулярний маркер (алель) MA0070, MA0071, MA0062, MA0045, MA0063, MA0064, PZE-108095339 і Affx-91328160, і не містить щонайменше один (HT2 або HT3) маркер (алель) PZE-108092843 і/або PZA-003182005.

Аспекти і варіанти здійснення цього винаходу додатково підтверджуються наступними необмежуваними прикладами. Наступні приклади, включно з проведеними експериментами і досягнутими результатами, наведені тільки в ілюстративних цілях і не призначені для обмеження цього винаходу.

ПРИКЛАДИ

ПРИКЛАД 1: Розробка діагностичних маркерів для алелю RLK1 HT2 для маркерної селекції та інтрогресії ознаки у селекції

Засноване картах клонування алелю RLK1 HT2 в інтервалі QTL між маркерами PZE-108092843 і PZA-003182005 було додатково конкретизовано за допомогою рекомбінантних рослин між маркерами MA0035 і MA0045 (популяція RP6 x RP6HT3A) та PZE-108095325, та MA0045 (популяція RP5 x RP5HT2A). Рекомбінантні рослини з цими інтервалами показали стійкий фенотип до NCLB в польових умовах.

Маркерна селекція для малої донорної інтрогресії, що містить HT2 від донорів A619HT2 і A619HT3 1, може бути виконана з використанням комбінацій маркерів між Affx-91328160 і MA0045 (див. Таблицю 1), щоб усунути зчеплений вантаж, розташований поза відповідною донорною інтрогресією. Такий зчеплений вантаж вже описаний в [WO 2019038326 A1].

Рослини кукурудзи, що містять донорну інтрогресію з HT2, характеризуються як такі, що мають маркерний гаплотип, що містить MA0064, MA0063, MA0062 і MA0045, необов'язково що містить додатково Affx-91328160 і PZE-108095339 як зазначено в Таблиці 1, при цьому, донорна інтрогресія розташована між маркерами PZE-108092843 і PZA-003182005 (довжина: ~3,72 Мб, розрахована на основі B73 AGPv4), переважно між маркерами PZE-108094590 та PZE-108096610 (довжина: ~1,52 Мб) або між маркерами PZE-108094590 та PZE-108096469 (довжина: ~1,41 Мб), більш переважно між маркерами MA0043 і MA0025 (довжина: ~0,97 Мб).

Положення гену HT2 згідно з анотацією до еталонного геному B73 AGPv4 становить від 156,763,311 до 156,774,071 п.о.

Таблиця 1

Список усіх маркерів та їх фізичне положення на B73 AGPv4:

Назва маркера	Хромосома	Положення AGPv04	Донорний алель (HT2)
PZE-108092843 ⁽¹⁾	8	154456106	C
PZE-108094590 ⁽¹⁾	8	155860812	G
MA0043	8	155999733	A
Affx-91328160 ⁽²⁾	8	156372823	G
PZE-108095325 ⁽¹⁾	8	156374083	G
PZE-108095339 ⁽¹⁾	8	156378424	G
MA0021	8	156535845	G
MA0064	8	156541890	C
MA0035	8	156542253	A
MA0063	8	156543061	T
MA0070	8	156694565	T
MA0071	8	156694641	C
MA0062	8	156772431	G
MA0045	8	156789751	A
MA0025	8	156967599	G
PZE-108096469 ⁽¹⁾	8	157266475	G
PZE-108096610 ⁽¹⁾	8	157375673	G
PZA-003182005 ⁽¹⁾	8	158167578	A

⁽¹⁾ Ганал і співавт. (2011) "Масив SNP-генотипування великої кукурудзи (*Zea mays* L.): розробка та генотипування зародкової плазми та генетичне картування для порівняння з еталонним геномом B73", PLoS ONE, 6(12):e28334.

⁽²⁾ Унтерсир і співавт. (2014) "Потужний інструмент для геномного аналізу кукурудзи: розробка та оцінка масиву SNP-генотипування високої щільності 600 K", BMC Genomics, 15(1):823.

Фігура 1 показує карту фізичних положень маркерів з посиланням на положення маркерів AGPv04.

Подальший розвиток маркерів в області (AGPv4 156372823 – 156789751 п.о. = Affx-91328160-MA0045) призвів до гаплотипу діагностичних маркерів для донорних ліній HT2 A619HT2 та A619HT3 маркерів Affx-91328160, PZE-108095339, MA0064, MA0063, MA0062 і MA0045 (див. Таблицю 2).

Список діагностичних маркерів, що впливають на гаплотип HT2

Маркер	Донорний алель (тобто, алель HT2/HT3)	Альтернативний алель (тобто, алель, відмінний від HT2/HT3)
Affx-91328160	G	A
PZE-108095339	G	A
MA0064	C	T
MA0063	T	C
MA0070	T	G
MA0071	C	T
MA0062	G	T
MA0045	A	C

Кожен з цих діагностичних маркерів може бути використаний для відстеження малої донорної інтрогресії щонайменше HT2 (і HT3) у процесах селекції. Оскільки кожен маркер є діагностичним та тісно зчеплений з геном-збудником, що надає стійкості HT2. Крім того, окремі маркери Таблиці 1 можуть бути використані в комбінації і/або в комбінації з іншими маркерами в області від PZE-108092843 до PZA-003182005, переважно від PZE-108094590 до PZE-108096610, або від PZE-108094590 до PZE-108096469, більш переважно від MA0043 до MA0025.

Праймери KASP були розроблені для виявлення відповідно алелю HT2 (і HT3) та альтернативного алелю, та представлені в Таблиці 3. Також представлено загальний праймер.

Таблиця 3

Перелік праймерів KASP для диференціального виявлення діагностичних маркерів, що впливають на гаплотип HT2 (HT3) і, як альтернативний варіант, на гаплотип, відмінний від HT2 (HT3)

Маркер	Праймер алелю HT2/HT3	Праймер альтернативного алелю	Загальний праймер
Affx-91328160	GAAGGTCGGAGTCAACGG ATTGGGAAGATTCATATTT GTTTACATCACG (SEQ ID NO: 4)	GAAGGTGACCAAGTTTCAT GCTAAGGGAAGATTCATAT TTGTTTACATCACA (SEQ ID NO: 5)	CTCCACAGTTTTTACTCCC AAGTTTAGAA (SEQ ID NO: 6)
PZE-108095339	GAAGGTCGGAGTCAACGG ATTCTTGGCGTGCTGCAG GACC (SEQ ID NO: 7)	GAAGGTGACCAAGTTTCAT GCTTGGCGTGCTGCAGGA CT (SEQ ID NO: 8)	GTTTCGGGTTTCAGAGTCA AACGGTT (SEQ ID NO: 9)
MA0064	GAAGGTCGGAGTCAACGG ATTATGAACCTCTTTTGG TCGTTTTCGC (SEQ ID NO: 10)	GAAGGTGACCAAGTTTCAT GCTGATGAACCTCTTTTGG GTCGTTTTCGT (SEQ ID NO: 11)	GCTAGAACATGGCGTATA CGGAACAA (SEQ ID NO: 12)
MA0063	GAAGGTCGGAGTCAACGG ATTGGTGAGCAGCCATGG CGGA (SEQ ID NO: 13)	GAAGGTGACCAAGTTTCAT GCTGTGAGCAGCCATGGC GGG (SEQ ID NO: 14)	GTGAACCCAGCCAACCTC GTCTT (SEQ ID NO: 15)
MA0062	GAAGGTGACCAAGTTTCAT GCTATCTAATCAAACCTGGT GTTATATCTTTTGG (SEQ ID NO: 16)	GAAGGTCGGAGTCAACGG ATTAAATCTAATCAAACCTG GTGTTATATCTTTTGT (SEQ ID NO: 17)	CACGTCAACCAGAAACATA AAGCACAAAT (SEQ ID NO: 18)
MA0045	GAAGGTGACCAAGTTTCAT GCTAACATCCCAAAGCACT GAACGGA (SEQ ID NO: 19)	GAAGGTCGGAGTCAACGG ATTACATCCCAAAGCACTG AACGGC (SEQ ID NO: 20)	CCAAGAAGCTATTAGATT GTTGAATAGCA (SEQ ID NO: 21)
MA0070	GAAGGTCGGAGTCAACGG ATTCAATTTTCTAAAAAGAT TGGCAGCAATTAATT (SEQ ID NO: 40)	GAAGGTGACCAAGTTTCAT GCTCAATTTTCTAAAAAGA TTGGCAGCAATTAATG (SEQ ID NO: 41)	CRAACCAAAGTTACCGCTA TAAGCC (SEQ ID NO: 42)
MA0071	GAAGGTGACCAAGTTTCAT GCTGAGCTAGCTTGAGCT CGACCG (SEQ ID NO: 43)	GAAGGTCGGAGTCAACGG ATTGAGCTAGCTTGAGCTC GACCA (SEQ ID NO: 44)	GCTTATAGCGGTAACCTTG GTTYGC (SEQ ID NO: 45)

У Таблиці 3 нуклеотидні ділянки з підкресленими праймерами гібридизуються з геномної ДНК Zea Mays (або з прямим або комплементарним ланцюгом). Нуклеотидні ділянки, виділені жирним шрифтом, являють собою хвостові послідовності праймера KASP (що не зв'язуються з геномною ДНК Zea Mays). Нуклеотиди, які підкреслені та виділені жирним шрифтом, являють собою алель-специфічні нуклеотиди.

Праймери, які перераховані в Таблиці 3, являють собою праймери KASP. Однак у певних варіантах здійснення цього винаходу праймери не є праймерами KASP і можуть не мати хвостових послідовностей. Відповідно, у певних варіантах здійснення цього винаходу праймери для диференціального виявлення можуть

бути такими, як представлено в Таблиці 4.

Таблиця 4

Перелік праймерів KASP для диференціального виявлення діагностичних маркерів, що впливають на гаплотип HT2 (HT3) і, як альтернативний варіант, на гаплотип, відмінний від HT2 (HT3)

Маркер	Праймер алелю HT2/HT3	Праймер альтернативного алелю	Загальний праймер
Affx-91328160	GGGAAGATTCATATTTGTT TACATCAG (SEQ ID NO: 22)	AAGGGAAGATTCATATTTG TTTACATCACA (SEQ ID NO: 23)	CTCCACAGTTTTTACTCCC AAGTTTAGAA (SEQ ID NO: 24)
PZE-108095339	CTTGGCGTGCTGCAGGAC C (SEQ ID NO: 25)	TGGCGTGCTGCAGGACT (SEQ ID NO: 26)	GTTTCGGGTTTCAGAAAGTC AAACGGTT (SEQ ID NO: 27)
MA0064	ATGAACTTCTTTTTGGTCG TTTTCGC (SEQ ID NO: 28)	GATGAACTTCTTTTTGGTC GTTTTCGT (SEQ ID NO: 29)	GCTAGAACATGGCGTATA CGGAACAA (SEQ ID NO: 30)
MA0063	GGTGAGCAGCCATGGCGG A (SEQ ID NO: 31)	GTGAGCAGCCATGGCGGG (SEQ ID NO: 32)	GTGAACCCAGCCAACCTC GTCTT (SEQ ID NO: 33)
MA0062	ATCTAATCAAACCTGGTGT ATATCTTTTGG (SEQ ID NO: 34)	AAATCTAATCAAACCTGGT TTATATCTTTTGT (SEQ ID NO: 35)	CACGTCAACCAGAAACATA AAGCACAAAT (SEQ ID NO: 36)
MA0045	AACATCCCAAAGCACTGAA CGGA (SEQ ID NO: 37)	ACATCCCAAAGCACTGAA CGGC (SEQ ID NO: 38)	CCAAGAACTCTATTAGATT GTTGAATAGCA (SEQ ID NO: 39)
MA0070	CAATTTTCTAAAAAGATTG GCAGCAATTAATT (SEQ ID NO: 46)	CAATTTTCTAAAAAGATTG GCAGCAATTAATG (SEQ ID NO: 47)	CRAACCAAAGTTACCGCTA TAAGCC (SEQ ID NO: 48)
MA0071	GAGCTAGCTTGAGCTCGA CCG (SEQ ID NO: 49)	GAGCTAGCTTGAGCTCGA CCA (SEQ ID NO: 50)	GCTTATAGCGGTAACCTTG GTTYGC (SEQ ID NO: 51)

Таблиця 5

Перелік навколишніх послідовностей, придатних для диференціального виявлення діагностичних маркерів, що впливають на гаплотип HT2 (HT3) і, як альтернативний варіант, на гаплотип, відмінний від HT2 (HT3). Відповідні положення маркерів (SNP) виділені жирним шрифтом та підкреслені. Вироджені коди зазначені згідно з IUPAC (Міжнародний союз теоретичної та прикладної хімії) (R=A/G, Y=C/T, K=G/T, M=A/C)

Маркер	Область маркера
Affx-91328160	<u>TTCATATTTGTTTACATCACRATTCTAAACTTGGGAGTAAA</u> (SEQ ID NO: 52)
PZE-108095339	<u>ACGTGGCGCCAGCCACGCACRGTCTGCAGCACGCCAAGCA</u> (SEQ ID NO: 53)
MA0064	<u>TTCTTTTTTGGTCGTTTTTCGYTCCTTTGTTCCGTATACGCC</u> (SEQ ID NO: 54)
MA0063	<u>CCAGCCAACCTCGTCTTCTCYCCGCCATGGCTGCTCACCTA</u> (SEQ ID NO: 55)
MA0062	<u>AACTGGTGTTATATCTTTTGKAACAAATTTGTGCTTTATGT</u> (SEQ ID NO: 56)
MA0045	<u>CATCCCAAAGCACTGAACGGMTATGCCATTACTTTGACAAT</u> (SEQ ID NO: 57)
MA0070	<u>AATTTTCTAAAAAGATTGGCAGCAATTAATKGGGGCTTATAGCGGTAACCTTTGGTTYGC</u> <u>AT</u> (SEQ ID NO: 58)
MA0071	<u>RGTTGAATATCGATCCAACTCGMCGYGGCWYGGTCGAGCTCAAGCTAGCTCCGCTC</u> <u>AGCTC</u> (SEQ ID NO: 59)

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> КВС СААТ СЕ ЕНД КО. КГАА
ЮНІВЕРСИТЕТ ОФ ЦЮРИХ

<120> СПОСОБИ ІДЕНТИФІКАЦІЇ І ВІДБІРУ РОСЛИН КУКУРУДЗИ, СТІЙКИХ ДО
ГЕЛЬМІНТОСПОРИЗНОЇ ПЛЯМИСТОСТІ ЛИСТЯ КУКУРУДЗИ

<130> KWS-017-РСТ

<150> 20185759.6

<151> 2020-07-14

<160> 59

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 24632

<212> ДНК

<213> Кукурудза Zea mays

<400> 1

60 atggctgctc acctaccacg cctccccgtc ctctctctcg tcctctctcg tgcccatgtc
120 gtctccacct ccgccccatgc cgagcctcct cttccgagcc cttacagcac ctccgcccat
180 ggcgagcctc ctcttccgag cacttacaac gtctccatgt gctcggaatc gttctgggtgc
240 ggcgggcgtc aaatccgcta cccgttctat cttgccaaac caaccgccga ctacagcggg
300 agctactact cctgcggcta caccgacttg agcgtttcct gcaaactcga ggtcgagggg
360 ccgacgacga catggacccc taccatccgt ctggcgggcg acaactacac cgtcaagaac
420 atcttgtacg actatcatac catctcactg gcggacagcg atgtgctcgg aggcggcgag
480 tgccccgtcg tccaccacaa cgtcagcttc gacgagacgt ggctgcacaa ccccagcgcc
540 ttcgacaacc tcaccttctt cttcggatgc cactgggggc cacgcgatac actgcctgaa
600 tttgccggca acaacatcag ctgcgccggg ttcagtactc cagctatcag cgggtggaggc
tccttcgtgt tcaagcctga agatcttgac gaacatgcgg agcaggagtt ggcttcacac

660

tgcgacgagg ttttctccgt gccagtgaga agcgaggctc tgcagcaggc gatcgtcagc

720

aacctcagcc tcggggacgg gtacggcgag ctgcttaggc aggggatcga gttggaatgg

780

aaacggacat cggaggatca gtgtggccag tgcgaggaat cgggctccgg cggacgggtgc

840

gcctacagcc agaagagaga attccttggc tgcttctgca gcggagggaa ggcgggcaac

900

ccgttctgca aaccatcaag taaagtcctg aaccgaccct cccttatttt tttttcattt

960

tttgcaatca ccagagcacg catcggttgc gtcagtatct tgcaacctcg tagctagccc

1020

cgcagtgtcc cctgtgtgcg agtaccgcgc tgctccagct tgccctcctgc taacgcctaa

1080

cgggtgaatgc ttcattgcttg acatgatcta gctagtctac actttgcttg gggtttgcct

1140

gggagctgga aattctggct cctgtttgca tctactgaca aggacgcttt cagacttgcg

1200

actctcgttc tgcttttgca ccaaaccgt gttttttcat ttctgtgatcg agattaatct

1260

agcgtagaga tgtcaatggg tatccgaaac tcgaaaccg atggattttt actctattag

1320

gtacaagttt gaatcaattt tcatatcata gatttgtaa taggcacaaa tctatatcca

1380

acaggttcat agatacgggt ttgttcctac agtaatcaaa tccgtaaacc catgagtttt

1440

ttagacccga ccaaacctag cgtatattgt cattttattt tataaacgaa caacaaaatt

1500

attatctctc tatttacttc ctattttttt atcggttggg gaatgtataa gtagttgggtg

1560

agagtgttgc ttgcttgcta ttataatatt tagttattta ctagtgttat atatgtgggtg

1620

gatggataac ttattgaaaa ggtcacttga ttatacaact tattatttgt attcattctt

1680

tctactaata atttttatat caaatcatga actcgggtgtt tatcatataa attttggacc

1740

atgatcttat taatcatcac gatagttatt aattatgaga aaaacaaata tattggagat

1800

aaaaccctcg gctaaccctg taaccgatg ggcacgggtt tgaacaaaat ttcaaattta

1860

ttatgaatac aagtttttta acaaataatg atatgtttca tggatagagt ttgagatgac

1920

aaaatccaac ggatttgtat ccgttgccat ctctatccgg cggcccttac cgtgctccac

1980

gagcagaggt cgtatcgtcc ctcttcccgt gtcgcctgct tcgcgttgcc gaacggagac

2040

gtttggtagc gttggccggc tctagcagtc ggggtcaattt tttgtttgtt gttttcgatg

2100

ttgttggatt tttgttccgt ataagccatg ttttggtaat ttatttagtc cagccgaatc

2160

cgaagacgtg tttgctgggt tggagacttt ggagttgcta gtcatgatat gctttctact

2220

cggtttgatt tcaaccacgt taggctatat ttgatactct agtatttatt ccaatataaa

2280

tggtttgaaa gggattaaga tataaattag ttttaatttat atctttaatt tctcttaacc

2340

catatgtatt gggctgaata ctaagtatca aaacaagccc ttatttaaga tgcattttct

2400

ttacagttac acgtggccac tattgtgtgg ggtaggccga tcctacttgt cagtgtcat

2460

tcgagagcaa agataccgaa ggagattaga gagactaaaa gctttttact atttaaaatt

2520

agataataag acgatttaat cccgttccat atctttgctc taaacaaacc ctcaatgac

2580

atatatctcg gaagatccgg ccggctgttc tttatttatc aagtgatgac tgctgaccgc

2640

ttatagaata tatattttaa agcaaaattt cttctacatc agtaaaagga ctagacgaaa

2700

caatgatgca tttctctaac aaaagaaagt agaattatca agcggagagc caagaccaa

2760

agccttacat ctatgggcgt caaccaatga taccgcgaac caccacagct ggtctatact

2820

gtctgtcacg acccagcgag taaccgtgtg gctacgctgt tagcttagga ttgaatgaaa

2880

tgctcggttc attaataaat cagctcacga gttaaatgat ttattatata acgaaactat

2940

atgcatatta tttaccaggg tgacgacagg gggcataggt gggcaatatc caccctaag

3000

ctcctctaata tctataggga ttgttaattt atttagctaa ttatcatgta aacgatataa

3060

aaaatgtttc taacagcccc acggtccacc ctaatcttag accctagctt cgcctgttac

3120

gataaatatg ttatacatgt gtagtgtcta tgcctatga attaaactaa tgattgatga

3180

actgtgctta tatattaaat tggctctatgc gaatataact atgtgttaaa ctgatgaaca

3240

tgtgtgtgaa ttgtgaattg ataagtgatg agttgtgtct aatttagtgt tatattgatg

3300

tgttttgtga aactatgagt ataattaata ttttctataa ttaaatttgt ttaaaattaa

3360

ctagaaattg attattatat atatatattg tttttctgct ctaattcgca agctaaacaa

3420

gcaagctcaa gctcgtaaac gagccgaacc gagctgactc tgtggctcat taacttaaca

3480

acccgagccg gaccaacttg ttagcttaac gagccagctc gaatacggac gagttgagcc

3540

gagctggcat gatatccagc cctaattagg ctctgaccag tgcaacatat cctctctgcc

3600

tttgtcacgt ccagacatgt caatgggccc cgattcccgc aaggaattcc tctattaagg

3660

gatgatgatg agaaagtffc tccccacgg aaaaattctc tcctgacgca taaacgggga

3720

caacactcca catccccatt cctcgtgggg acctattaaa cttacatatg gtgatgtttt

3780

catgtaaaag ttaatgataa aaataaataa ttacgttgtc aagatatcac tttttgtaca

3840

aatgtgctca ttctgatgta gacatatttt ttcttacatc taacaatctg tatgagtga

3900

aatgttttgt attaataaca aagtaagtat gttctaatta taatttaagc ggggtccgggg

3960

atccccgatg gggatttata cccttgggaa acgaagatgg ggaagaaatg tcctacacaa

4020

gttttcatgg cgatcctcgc ggggaacttt ttcgtcgtgg ggatagggat ggggagctaa

4080

aaccgatga ggaattcctc gttgtcatcc ccagtcacgt caactctcga ctctactatt

4140

gtctctgctg catagtctgt ggtaaactat agcctcagcc tatagcacat cagcttttct

4200

atttcagaat taagtaattc atgcagtttt atttcaacgc tcgaaaatta cacaacataa

4260

tatTTTTTat tgaattaaaa attataaagt gcatacaaat caataaaaat atattataat

4320

taaaacatat ataaatctaa tcggagacct cgatcttata ctctgtcttc accacctctt

4380

tttgttttgc ttctggttcc tcttcttcgt catcaaccag accacgtcct ttttcgaaca

4440

tctttatggc cttggcatgg gtttatcttt cagctaggtc catatccctg gttgaatggc

4500

tcttttagagt attccattgc tttaaaagct tggctcttcac taatccaccc cacaagttct

4560

tcattttaaa tgcttcactt gttgactgtt gcttggtggc tctttccctt tccccctcac

4620

cttcactttt cgcccagccg cctttgccct atcacgccct actgatcggg gcacttcctt

4680

cttggtatct ttagtgcctc cagaactata ttcactagag aacttgagtc gggttatctt

4740

attcgtagtc ccattttatc ctagaacctt gtcattgctg cctccatgac cattgcctcg

4800

tctgcttcgc tctgatgcaa ctttcttct cgaaggtagt atccattaaa cttgctcacc

4860

tcccggttgt aggtgcccta atgattttta agttgcttgg cggtttgagg atatcaaggg

4920

tcggagggtg agttatatgt tgccgctatt tgactccaaa aacatgatcc agacttattg

4980

ttgacagggg ttgaattatt agaatgcata ttccaagaat taacctataa tataagtaaa

5040

ctacaaatat aaatattaaa taaatgagaa atgattcact caccaacttt tcctcatagt

5100

cattcatcca ttctagcctc tttggacact tttctttcgg cccaggattt tcctcggctt

5160

ggttttcaaa tccaacatac tagacatgta tgtggaattg gaggagggtgc tcatacagag

5220

gtggagcata tgcaggaggg gcatacagag gtactgagaa agaagtttga cttccatccg

5280

cagcagggtgg aggggcatac agacgtaccg aggaaaaagc ttgaattctg gcttgggaag

5340

ttggaggttg accatatgaa ggcggcaagt atgaatacag atgataggaa aaggttatgg

5400

tggtggtgga cgcgcaactg aaaatagtgc atgggggact gaagctgaaa catcagagcg

5460

acaatgtagt ggagagactc atcaaacgga ggggtttgtg acccatcgga ctacaagaga

5520

tccatgaagg tgttcaaatc tggggaccaa cccgatattg tgtgaacaga ggggagtttg

5580

gaagagagaa acgaaatgaa atggtgtgtg gaatgagctc aaccaagta gaggtactta

5640

caaagggatt ggggatgaaa tttgtgattt tttgcaattt tttatTTTTT ggattccaaa

5700

cgatcaaaaa caactagttg caatagctag ctgtggggga tagatatccc cgggtccac

5760

taaggagagta aaagacctca cgaaaggccc aagggcccaa taaatcgtaa ggtcattctt

5820

ccgtgggcct ggggagaaac aaccaacaaa acagagaaga cgtaagaccg gattggtgca

5880

aacccggacg gccacacacg tcgaacgagt aaatcgcaac agagacccga ctttccgcg

5940

ctggagcccc catgcaacgg agccatgcga ggataagtcg gcgagggtta cgtagggata

6000

aactcaagag gttcactacc ttttagctac ttgttggttat catatccacg tgtactgcc

6060

cacggctcgag tatataaggc ctaggggggca ccccttcaga acgatcgacc ctatcttact

6120

tagccacca cagcaactct ctgtgtcttc aatccagaga gccctcttgt aaccacgctc

6180

acatactcac caggacgtag ggtgttacgc atctctaagc ggcccgaacc tgtaaattct

6240

gtccactgtc cctcgtgtga tcggcacgaa ctgttttgct acagtcgtcg acaccgtcct

6300

actcctagaa acaccttgag gggcaacccc ggggtgtgagg ttggaccaa aacaccgaca

6360

gctggcgcgc caggtagggg gtgtgtcgac gatccaagct agctcaatgg ccatacctt

6420

ctacagcaag atcaccatgc gtcttgatc cgtattctgc ttggggacaa tctcatctgt

6480

agcggatgaa gagggaattc tacaccgtat cgcagatccg ccggaaaaga agactcctcc

6540

aacgaactcc gaaaatgccg gagaggcaca acctccagct cttcgaaaa agatcgtctc

6600

cggaaaggcg ggggccgagg gctcgtgac ccggaagact ccgttgtcta cttcctcgac

6660

gaaagaatgg acacggatca cgaggaagaa ggagaccggg gaaaagcaag tcgttctttc

6720

cgttcctccg gtctcaaagg agaacggaaa gaaagtcgcc gcgacagcag caccattcta

6780

ccccgacgtc ctcttcgtcg ggagagtgga gtcgcccacc gtctctgacg acgaaccgac

6840

cgcgcccgga gaagagccgc ctcaacgaga atcccgccga cggagaaacc ggcgacaggaa

6900

cgttcgacga catcacgcgg ccggagaacg ggatccggag cagcctgtct cgcgagacga

6960

ggtctcggag ataggagaaa ctccggaaga acgctcttc agagaacgaa ggaactcccg

7020

acgacgtgat cgccggcggg ctacaggaaca ggccgagcaa gatgcaaggc aacgccggga

7080

7140 gaatccgctc ttcgggcgca acctaaatcc cgacttcgcc cgagctatga acacgccaag
7200 cgaagtcgga ggggtactag cttggatagc tgatggactt cctcgaactc ccgacgccga
7260 gggataccga cgcctgttca cccaggcagc caaccatctt ctacctctcg ctcacccgcc
7320 gaacgatcta cgacacgcca tcaacagtcg ccgagacgcg cgaagctcca tcaatgcttc
7380 gcgcgaacgg cggcatgaga acgagattcg ccgtcgggag gaatacgacc gggatcatgg
7440 catcccgact cagagccagg ccaccaggac tgatcggca acagcctcaa ctggcggaac
7500 caccggggga cggccgagga accacaatca caactcccct ccccgggaca gacatcgtcc
7560 ccgacaacag gaggacacgt gcggagtgtc cgctcttact ccacgcctta gggccatcca
7620 atggcctccc aacttcaagg tatccaatgt cgacaaatat gaggcctaagc aggatccagg
7680 gggttggcta gccgtctaca ccaccgtgc tcgggctgtc ggagcatctg aggacgttat
7740 gaccgcgtat ctgcccacg tccttgggca agatgcgcta cagtggctac gacatttacc
7800 ccgacactgc atcgacgact ggggagactt cagtcgacgt ttcaccgcca acttccagtc
7860 cctctccgac aagccagcgc aaccgtggga cctcaaatcc atcaagcgtc ggggggatga
7920 gactctccgg tcgtacctca aaaggttcca gaccatgaga aatcgcatcc ccgaggtcac
7980 ggaggcggcc gtgattgagg acttctacag aggatccaac gactcggctt ttgtccgagc
8040 catactacag aaagcgccga ctacttccga ggagctgttc cgggaagccg acctctacat
8100 caccgccgac gagcgagctc aggacctcat cggaggagcg aagcctgcac cggcagcacc
8160 acgacgcgac gcgaaccaac cacccgacaa acgctgggag aagaggcctc gcgaagaagt

acacgccgcc ggaccacctg cctctcgcgc ccgaggagga cctcgtggag gcgagcgcac
8220
gctggacgac atcctcgacg cccagtcccc ataccacaag gacatgcgcc acactcttcg
8280
caactgccgg gacttcaagc actccgttgg gcatggccga cccttccaac ctctacctcc
8340
tcctccgccg aggggaggac cggatgaacc gcgacaacct catcagccgg aggaggagg
8400
aggaggagct ttcccacgcg tcgacaggga ggtcaacgtc atcttcggcg gacatgggtc
8460
gcaggagaac aaaagacaac aaaagctcaa cgaccgccag atactggtgg cgaccaccgg
8520
tcctccgcc ccataccggt ggtcagaaca cccgatcacc ttcactcggg aagatcaatg
8580
gctcaacttc gaccatccag gcaaataccc gtcctcgtc gatccggtga tccgagagag
8640
ccgggtgaag aagggtgctag tggacggggg gagcagcatc aacatcacct tccccggac
8700
gctccaaggc ttgggggctc acctcaaaga gtcacacaag tcggacactc ctttctttgg
8760
catcgtgccg acggaggagg aatacccgct ggggcacatc tacatgccgg tcaccttcgg
8820
aactccggag aactacagaa tcgagttcct gaggtttgaa gtggcgaact tcgactgcgg
8880
atacaacgcc atcattggaa gaccgggatt ggccaaattc atggccattc cgactatac
8940
gtacatgata ctgaagatgc caggaccgca agggatcata actgtgcgcg ccgacttcca
9000
aggcgcgcga gaatgtttcc gagtggccat ccaggcagcc ctcaccacca agccgccaac
9060
ggtccccctc acactggcga attctaagcc tgaggaggac ctgcggtac cggcaaacga
9120
agctcaggcc gcgacctcta tgcggccgac tgaagaaacc aagcgaatca acctgggggt
9180
cgctgatgag cgcaagacgg ccatcatcag ctccagcttg aacgacaaat aggaaggcgc
9240

gctcgtccag ttctgtcaag ataaccgaga tgtattcgca tggcaacctg cggatatgcc
9300
gggagtccca agagaactgg ccgagcaciaa gttgaagggt tatccccagg cgaggccgat
9360
ccggcaaaag ctacgtcggt tcacgcccga caagagagag gccatttgcg ccgagttagc
9420
tcgcttggtt gcggctggat ttattagaga agtattacac cccgagtggg tagctaacct
9480
tgttcttgta ctcaaaaaga ataaagtgga ttggcgcatg tgcgtcgact atactgatct
9540
caacaaacac tgtcgggaagg atcccttcgg gctcccagg atagatcagg tgggtggactc
9600
taccgccgga tggtctgtgc tgctattctg agattgctat tccggatatc atcagattag
9660
tttgcaaaa gaagacgagg agaaaacggc gttcatcact ccgtttgggt ctttctgtta
9720
cacctccatg tcgttcggcc tcaaaaacgc tggagcgact tatcagagag ccattcaaac
9780
atgcttagcc aatcactggg gcaagcgtgt ggaggcttac gtagatgatg tgggtgatcaa
9840
aacagagaat tcggaaaact tcacgaaga ttacagctg gttttcaaca gcctgagaag
9900
atatagatgg aagctcaatc ctgaaaaatg tgttttcggg gtaccagcag gaaagttgct
9960
cgggtttatc gtcagccact ggggaattga ggctaattca gataagattg aagctatcat
10020
gaagatggaa gtcctcggg caaaaagaa ggttcagcga cttactggat gtatggcagc
10080
tctgagcaga tttatatcca ggctgggaga aaaagggtta ccattttaca agctactcaa
10140
gaaggtggat aagtttcaat ggacttcaga agcacaagaa gctctagacg cactgaagaa
10200
attcttgaca acagcaccag tactgaaacc accccggcga gctacgccga ctcaaccggc
10260
tgaagatttg ctgctgtata tctcttgac gactcatgtg gtaagcaccg cgttggtagt
10320

cgagcgagta gaagaaggac atgcctatcc agtacaacat cctgtttatt tcatcagtga
10380
agttctaggc ccctcaaaga aaaagtatcc tcaggttcag aagctattat atgcagtact
10440
tctaactgcc cgcaagctgc gtcactactt tgacgaccac aaagtcata tagtcactgg
10500
ttttccaata ggggacattc ttcacaacaa ggaagccatt ggccgaatag ccaagtgggc
10560
ttgcgagctg ggatcccacg acatcgagtt ccgacctgc actgccatca aaactcaagc
10620
actggttgat ttcgtatcag agtggacaga acagcaagta ccagataatc cagaaactgc
10680
agaagtatgg cgaatgtatt ttgacggctc gctgaagctg cagggagcag gggcagggat
10740
tctcttcact gcacctggag gcgaacacct caagtacgcc ctctagttgc tattcccggc
10800
ctctaacaat gcagccgagt atgaagcttt gatacacgga ttgaacatcg ccatatcact
10860
gggcgtcaag agattgatgg tatacggaga ttctctggta gtcacagcc agataaacia
10920
ggaatgagat tgttcaagtg attcaatggg aaaatactgc gctgccgtcc gaaagctgga
10980
agataaattc gaggtcttgg aatttcatca tatagaaaga gatcgaaaca cagcagccga
11040
cgtactgtcc aagctcggat ccggtcgaac tcagggtcca accggagtct tcgtgcaaga
11100
aattctgcag ccgagtatct caatggatca aacagaagag tgcaacgtca taaatcaacc
11160
tgagtcagac tctgatgact ggagaaggct gattattaag tacataaaga atgacgaaga
11220
accagacgac aagaactcgg cagagcgcat tgccaggcag tcggctcgct atacactcat
11280
tggggaggag ttgtacagaa ggggcgcac aggcacctc atgaagtgc ttctcccgtc
11340
cactgggaaa caacttctgg aggaggtcca cgcagggcaa tgtgggatac atgcagcatc
11400

11460 cagaacacta gtcgggaagg ttttcaggtc aggattctat tggccgacgg cgaagaacga
11520 tgcagccgag ttagttcaga gatgcgaagc ttgccaatac ttgtcaaagc aacagcacct
11580 gccagcacag caactacata ccataccagt aacctggcct ttcgcatgct ggggactgga
11640 tatgattgga cctttcaaga aagctcaagg gggatatact catgtattgg tggcgattga
11700 caaattcact aaatggatag aattcaagcc cattgcttct ttaacctctg ctaaagccgt
11760 ggaattcata caagacataa tattcagatt cgggataccc aacagtatca tcaactgactt
11820 aggatccaac ttaccagtt cagaattctt cgacttctgc gagcaaaaga gcattcagat
11880 caagtatgca tctgtagcac atccaagagc caacgggcag gttgagcgag ccaacggaat
11940 gatattggag gcactcagga aaagggctct cgacaagaat gaaaaattcg caggaaagtg
12000 gataagagaa ttaccttatg ttgtttggag cctaagaacc caacctagcc gagccctgca
12060 tggaacact cttttcttca tggcttatgg gtcggaggca gtgctacctg ctgatctcaa
12120 gtttggggcg ccaaggttga tcttcgaaag catagcggaa gctgaggcca ccaggctgga
12180 ggacgttgat gtacttgagg aagaacggct gaacgcggta atccaatcag cacggtacca
12240 gcagactcta aggcgctatc acgacaaggc tatgcggcaa cggttctttt cagtaggaga
12300 cctcgtcttc cgccgaattc taacgggaga gggacggcac aagttatcac ccttatggga
12360 aggacccttc ataatagcag aagtcactcg gcccggatcg tatgcctca ctcagatgga
12420 tggcacagaa gttgggaact cctggaacat agagcacctc agaaaatttt atccctagct
12480 gtatttcaaa actgctgggg cgacaatgta ttctgtaaag tggaaatatg tcgtcaataa

12540 agagagattt caaagatact cggctcgttt acaattgact tgcatttcta cttactcgg
12600 ggtgaccact atgccctaca aacggagcaa tcggcttaag tcggcaacga cttaggcgga
12660 tgcaacatgc tcacgcttac ttaacccggg atgaccacta tgccctacaa acggagctat
12720 cggcttaagt cggcaacgac ttaaggcggg gcaacatgct cacgcttact taacttaggg
12780 tgaccactat gccctacaaa cggagcaatt ggcttaagtc ggcaacgact taaggcggtg
12840 caacatgctc acgcttactt aacttagggg gaccactatg ccctacaaac agagcaatcg
12900 gcttaagtcg gcaacgactt aaggcgggtg aacatgctca cgcttactta actcggggtg
12960 accactatgc cctacaaacg gagcaatcgg cttaaagtcgg caacgactta aggcgggtgca
13020 acatgctcac gcttacttaa cccgggatga ccactatgcc ctactaacgg agctatcggc
13080 taaagtcagt ggtggcttaa gccggcgcaa catactcgcg cccatataat tcaggggacg
13140 acttccatat cccgccaaca aatttcatga tcatcatgcg tcattaccac aaatttacga
13200 accaataaat tctgatacga taagagagta attatgtcat tcgaatgata aactgatgta
13260 ttttaacaaa tactcgatca tgctaaccgc gcgctcagag cacgcaaaat gtttctctat
13320 ttcgcaatgt ctttttcagg aacgaccgac gaagtaggac gattcgagga atcgggggca
13380 gcattcacgt cagcctttat gtcttcagga acaaccacgc cgggtctcct cattaagatt
13440 cgtccagcac gaatagcctt gtccatggct ttatcgcgt gggctttgag agtagtcgca
13500 gtttcttcgg caactttagc agccagccga gcagcctcta actcctgggc aatggatttc
13560 ttggaagctc ggagttcttt gatggtggca tccttcgctg atatcacttg cctaaggcgg

gtcacttcgt ccgcagattc ttgcagccta caacgctgat tgtccagttc ctccattgta
13620
aagcgggtgac tcctctccaa gatggtcagc gagttgttag aatcacgata caatctgtct
13680
agattgtcac gagaagcagc aaggatacgt ttttcttcct acaaacaaaa atcaactcct
13740
tcagaaatca agcaagtaat aacagcacac ggttttgtta gttacctttt cagagtcaag
13800
ccgagcatga agagaagaac tcagggcatt ggcatcatcc aaagcagcgg agacctgatt
13860
taattcagtt tgactctgag agtacttctc ctcgaagtca gcgcaccgtt gaaccatttc
13920
agcctgctct cgggagtggt tttcctcaag aactgcaatc tgctgagtca ttcctatcaa
13980
gaggtaatca aacaaaatga ggtcagaagg taaaacagtc cacgaacaaa ggcaagaag
14040
aataagaaaa aagggcacta accagcggtta gttgcctcca actcggatac acgacgatga
14100
agcgacactg gattccaaca cgcaagagac gaagccactt ctggggcgga agcaccctgc
14160
gatctcagct ggctggccat cccatctacc aaagcctgat aagaagaaca gatgaacata
14220
atgacaaaag ttcacgcaac ataaagaaca agctaaaata cagcacagta cctggaggtt
14280
ggaaaagaac gaagggatcc ccaaatacagg agaaatcagc tgataaccag gcgcaaggcc
14340
accacccgaa gcagcttgca acgaaccagt aggaatcagt tcagtgcctt caacagagcc
14400
aaacgcccgga tcagcgggga cgctgccctc taaaatgcct ctctgggtcca aagtttgggc
14460
taccaccatg cagccagagt gtggaggtga acccacgtga acgtccatag aagtcagga
14520
aggagaccct gctcgggcac cctcgggggc tgggtcatag ttggcactgc ccacttgagc
14580
cggatcatcc ccggcagaac cctcgggggc tgggcagtgg cttacattct tcacccgagc
14640

14700 taagtcatcc ccagcgacac cctcgggggc tgggcatgtg tcagcaccat tcttgagatc
14760 caggctctcc gcagtaacca cctctaaggt tgacgggcct tcagccactt ccatggaacc
14820 aggacaatcc aagtcagcat cccgaccctc gagatcgcgc tctaaggtcg acgaggcacg
14880 ggatgacctc aaccagcat caggcacggc agcgcaagcc tccgttgcac catcatccac
14940 tggctctgat aacaagtcct ctgggacccat atcctcaaga gtttgatcaa agttggccag
15000 ggacagctct tgcagaccaa tgagggcaga caaagcagga gaaggaactc cactacttcc
15060 accgctggcg atgaactgcc gactgttttt ccgagttaaa ggagcttcat tttcttcctc
15120 ctcatcttcc acagtgacaa cacaagcagc acccccattg ggatcagcaa cagatggagc
15180 acccacattg ggatcagcag cagtttgggt acaccattg gggtcagcgt cagtaaggcc
15240 agttgcaggc acttcttcaa cagcaggaac taaggtagcg gcgtcctcat caaaactgga
15300 tactcgccgg aggcgtcttc tcttcttctt ttgctcatca gcagaaggct caggctgact
15360 ggttcggcta gggcgccctc ggcgagtatt gactggtttc tggacatcca aagttgtatc
15420 aacctctgga aggggcacca ctgccaacgt accagcagga gcagcgtcgg aggaatcctc
15480 agctagcaga tcaagcatgg catttatgtc cgcatcacta gggttcaggg gcacctcaaa
15540 atggacctgc cgttcgtcat caggaatctc cccaagcgaa gcaaccaagg taccgacttc
15600 ttcagcagag gatcgactc taaggcccaa attgccatca gtcacaggcg gatttgacac
15660 aaaaagggtg aaagctttgg gaggaggcag gttccaggcc gagtatgcca ctggagcacc
15720 aacattcgaa acctacccc tgaggatcat ttcaagtcgg cctaccaagt ccacaggagg

15780 aattctccta ttggtaaccc gatttgagtc ggctaaccct cgatacagat atgctggata
15840 ggccctgtct ttcagtggct gaatgttctt aaaaacaaag tcagtgacca cagcttcagc
15900 agttagaccc ctctctttca gcagtccaac ttcagttagc aacacacctg cctcagccac
15960 ttcctgatct gtgggagact cagtccagct cggagtgcga acgtctggct gtcttccga
16020 ccgggggggg ggggaatttc cataattatc aactatgaac cactctagac gccatccctt
16080 aatactgtcc ttgaggggaa tctcaagata ctcagttttc cgcccgggc gcatctccaa
16140 actggcacct ccgaccaact gatgctgtcc cccggccatc ccagggcgac aatgatacaa
16200 atacttccat aagccaaaat gcggcagcac gccaaagaa gcttcgcata agtggacgaa
16260 aatggagatt tgcagaatgg aattaggatt caaatgggtc aagttaatgt ggtagaaatc
16320 aaggaggctg cggaaaaagg gagagatggg aaggccgagg ccgcgagaa gaaaaggagc
16380 gtaaaactaca gactcgtggg tctcctctgt cgggacagta gtcccgtggc aaatccgcca
16440 agaacagagt tctcgcggag gaagaacctc gatggatacg aggtggagaa gttcagcttc
16500 ggaaatgatg gacatatggt tacctgcgaa gggcaactgg ctgttggggc cgattggagg
16560 gatcaccgca gcagacgagc tcgcagtttt cctcttgggc gccatcttga ttttcaccag
16620 cgaacagaat agggggcgaa tggcagagag gattcagaag cgggaatgca agaactaggg
16680 cacggaaagc aaaggcggct aaaagcgcag ctcttatggg atattctcga gccagatacc
16740 gtttcaaaag tgcccagtca tcacccgacg gttatttccg aaaccccagc atgccacgtg
16800 gtcactctggc agttattttc aaaaagccga cgtgtcactt catcactcgg ttatcatcct

16860 caaaataact catgcgggccg gctatcactc ggcgttgact ctaaaacgct gatttcatat
16920 tcagtcgctc ggcattacct ctaaaatgcc gacgtcacca tccagacact cgggtgtgac
16980 tctaaaacgc tgatttttta ttcagttgct cggcattacc actaaaaagc cgacgccgac
17040 ctccagtcac tcggcggttg ctctaaaacg ctgatctcgt attcaatcgc tcggcattac
17100 ttctaaaatg ccgacgttaa ccttcaatca ctggcggttg actctaaaac gctgatttta
17160 tattcagttg ctcggcatta ccactaaaaa gccgacaccg acctccagtc actcggcgtt
17220 gcctctaaaa cgctgatctc gtattcaatc gctcggcatt acttctaaaa tgccgacgtt
17280 aaccttcaat cactcggcat tgcctctaaa acgctgatct cgcattcgat cgctcggcat
17340 tacttctaaa atgccgacgt cgaccttcaa tctactggcg ttgcctctaa agcgatgac
17400 tcgtattcga ttgctcggta ttacttctaa aatgccgacg tcgaccttca atcgctcggc
17460 gttgcttcta aaacgccgat accgactaca agattactcg gcagctactt ctggaagcgt
17520 cagcgtgata cccaagttat tcattctactg tctcaaaaga atcagtttta taatcaagca
17580 aagcgagaca tcaagaagga gccaacgtca ttctttcatt aagggaagac aataagtta
17640 caaatcaact ctttgcgagt tgatgcttcc ctactattac tacattacat tactactact
17700 actatactat actatactac tctacattac tactacatta ttctaactac actatactaa
17760 tatctaaaga ccagcgacgc ttagccactg gccttgctgc tgctgccacc gccgccgcc
17820 ctggtgctgc ctttgctgct gccgcctctg gtgctgcccg tgctgctgcc gcctctggtg
17880 ctgcccttgc tcccgtcacc gtgccgctg ccccgccgc tgccgctgcc gtgaccatcg

17940 ccgctgccac cgtcgtcgtc gtcgtcttcg tcgtcgtcgt catcctcgcc ctgcccgtcg
18000 tccgagtcct cctcctccga ggagaactcc gactcatccg agccctcgag cccggagcgc
18060 tcgacggccc ggatgtacgt ccagacttcc gcggcaatcc cctgggagtc gtctgaatca
18120 tcagacgacg ccggggggaga gacgggagcc agagaccctt cggactcgga ggagaactcc
18180 tcctctgagt attccgagtc gccgaagtcc tccgacggag gagtcggctc gcgcttgctg
18240 ttgttactct tgcccatggc ggaagcagac aggagagaag agaaggatgc agtaaagaac
18300 agcgaagaga tgtgaaaaaa ccagaggagc aacggcgcta tttatagaag ggaaaggcaa
18360 ccgctcacct ccaaccgtgg tcactaaaca gtcgcaaagc attcaataag cacttcacc
18420 cgtctgaaga cgcgtcagac ggctgacgcc gtttcatgca acactacacc cattgggact
18480 ccagtcaaca gcgcaaagga tatgattaca ctgcccgtcc catcacatta ctactcagaa
18540 gcagccggct aaaacactca gcgtaccaag ccgtcccttg cccacacca ttggggggac
18600 gcccaggaat tatcagtata tttttcaaaa cggtcacatc cgtgcagggc acgcagtga
18660 tacctcaaga caaaaatgag atatcagtaa ggatcagagg aaagccaaat atagccagca
18720 atgtacaaga tatggccgac agaagcgacg tgaagactag acagagaacg tccgtcaaac
18780 gtccaatcag tcgcagaagc aaataaattg cactacctag caagatatgg atggattgca
18840 aactcggctg ctaaagacaa aatatacgtg gacctctgca gcaaaatatt gatgacataa
18900 tgctgacctc caaagcataa tgcaaatagc ttcatgcaa tttttacaaa cgaaagaaag
18960 accttgaat ggattatcct caaaaatcca tttgaaggtc gggggctaca cccattgggt

19020 gcacctccgg tgcacccccct ggattatcat tccaaaccga gatagtgccg acttctaagg
19080 cacgggacaa gattaaaata ccaatcctcg accaagatgc aggagcacia atggagataa
19140 tttctgggga agaccttcga gtagattatt ttctaaaaat ctactcaaag gtcggggggct
19200 acaccattg ggtgcacctc cgggtcaccc aatgaagttc agaatcctgc aaatcgaaat
19260 gtcgacctct aaggcacaag cacgaaacta agcttcggtc aaatgagcga tcggagcaag
19320 agaagacagc aggaagtcac tttttggacc tgggatcttt gggttgatta cctctaaatt
19380 aacccaaaga tcggggggctt gtggtggata gatatcccc gggtccacta agggagtaaa
19440 agacctcacg aaaggcccaa gggcccaata aatggtaagg tcattcttcc gtgggcctgg
19500 ggagaaacaa ccaacaaaac agagaagacg taagaccgga ttggtgcaaa cccggacgac
19560 ccacaacgtc gaacgagtaa atcgcaacag agaccgcact ttcccgcgt ggagccccc
19620 tgcaacggag ccatgcaagg ataagtcggc gagggttacg tagggataaa ctcaagaggt
19680 tcactacctt ttagctactt gttgttatca tatccacgtg tactgcccc cagtcgagta
19740 tataaggcct agggggcacc ccttcagaac gatcgaccct atcttactta gccccccaca
19800 gcaactctct gtgtcttcaa tccagagagc cctcttgtaa ccacgtcac atactcaccg
19860 ggacgtaggg tgttacgcat ctctaagcgg ccgaacctg taaatcttgt ccactgtccc
19920 tcgtgtgatc ggcacgaacc gttttgctac agtcgtcgac actgtcctac tcctagaaac
19980 accttgaggg gcaaccccggt gtgtgcggtc ggacccaaaa caccgacact agcacacgtg
20040 gaccaattga aagccccac cttgctctcg ttctgcgtc gttcacgcca gcgcgtcacc

20100 caccactgc gccctctcat cctccttgcc cgagaacgtg cttcagagca ggcgagagtg
20160 gggcgatatc gcccgaggga tgcattcttc cctcctctca ccccgggcca ggctacaaca
20220 gccccctact gcccaaccac tcgccctcgt tggcaccaac catactacca caacactcca
20280 atgcacaatt tttaatgtta gcctatatcc accttagcat cacatcatat ttctttctaca
20340 aaatttatatt tagaacgaaa cacgacgttt tgcttggaat tttttcgatg gagtagaaaa
20400 aatataatcc aaacaaatta cgtaaaatac gtaaaataaa aaatatagct cctaaaagtt
20460 aaaattactc atcattatca cctcctcgt tttcttcctc gtctagtttt aattgcgtga
20520 tcaatTTTTT tagaaccaac ctagaccctc ctcataccag tggtaggattg tttcagtaac
20580 ttggtgaact ggtcgtacaa ttttttgatt ggtttctcgt gtcactaacc ttgaataatt
20640 gcttcgttat ggTTTTTt tggacaaggg actcattggg actcattcct ggtgcctaac
20700 ccttgTTTTg tgctcttgcc caatcacgac caatagggtg tggtaggTTTg gcactatcgg
20760 acgatgtaga gttataatca cctccacgt tgaggcaaga tcattttctc tcattgctag
20820 agtttgaatc accatgtcac gtgcaccact tgaattgatg atgaagagca cgccattagt
20880 ttcatcgagc ctgttggtga agagtagcat aacattattt gatctgctcg gtaggttata
20940 cgtggccgat atttggcacc aaaaggtcaa acatttttgt tgtttcctc aaatctttt
21000 tgggtctaaa aaggtcaaac ctttttttgg ctttccatcc ctgtccccac gaacagtcac
21060 gagtaacttt ttctccatc cccgttcgtg tgggggaatt tatcccatg ggaaatctat
21120 ccctgttaga gaatgtaata ttttggggc aaggtcaaat tgataaacca atataaattg

21180 aacaaataag atttaaaatt acaagagaaa tctacttttag agttgagctt gctattttat
21240 aaaaggctat gtgttgaatt tttattataa ctttaacata tcaatggatt gatttttagat
21300 taagagaagt tcgtgggggc ggatatgcga ggaacaggga tggggaatgg ttcaccattc
21360 tcgtcccacg aacacgacaa ggactaaatt tttctcgttt caatctccgt ggggactaaa
21420 ttacacctat ccccgccac taataaaggg ataccccgcg gggaattagg gatcacgtcc
21480 ccatttcaca tttttagact tctcacattg agcaacaaca aaacatttta tgaattagta
21540 gccattttac ttatctaaaa caattactat tgaatcttaa tcattttgtg caaaataaag
21600 aatgaactaa attttgggtc ggggtgtgggt cacccgtagg ttgaaataaa aactcgcacc
21660 cacactcgtg aaactttggg tcagatgagg gttacacccg cggattaanaa tctctaccca
21720 taccacacc cgtcagatcg agtacccaaa gattttgggt ttgcgggtta aattgtcatc
21780 cctagacacg agtgtgtctgg aggatttgga agtttcgcaa tgcgtactta ccaagtgttt
21840 ggttctatgg attaaagttt agcatgtgtc gcattagatg attgaatgcc tattatgagt
21900 attaaatatt gtctgattat taatcaaatt acacaagtga aggctaaaca actagacaaa
21960 tttattaagc ctaattaatc tatgattagc aaatgtttat agtagcagca tcttagtgaa
22020 tcatgaacta attaggttta ataggttcgt cttaacgttt agttcttctc tatgtaatta
22080 attttataag taaactatat ttaatattcc taattagtct ccgatatata catagactaa
22140 aatttagtca gtggtgctgc tgctggctcc ttttcatttc atccgacata atgttttcct
22200 cccaatttat tgtgttgttt tgtttgct ttaaaaatga cttgtcctct gcttgctgta

22260 tcaaggctgt gatgtgtgct taacttattc ccttccttcc tagctgccct tagcatttat
22320 ataggggtat ttggttacat ggactaaagt ttagtttagt ccatgtccaa ttataaaact
22380 aattacataa ctgaatacta aaataccaaa atacgagaaa aattattaaa cctaattaat
22440 ttattattag caatgtttat tgtaacatca cataagcaaa gcatagactg atttagttta
22500 ataggttcgt cttatcattt agtcttgatc tgtataatta gggtagttt gggtcactgc
22560 ctaacttacc acactttgcc taacttttct gcctaagggt agttcttcaa ttggaacgac
22620 taaccttagg caaagtatgg cgtagttagc cacgaaccaa acagtccctt agttttgtaa
22680 ttaaactata ttactatatt ttaactagta tccaaacatt aaatgtgaca tggattaaaa
22740 tttagttagt gactttaggc ttttagagtt gagttagttg tagcttggtt tagttatttg
22800 tttgttctct tgcgtttatt taggacctct ctataatgtt ttatcacctt aatacaaatt
22860 aaaatacgca gctcttgtgt attgcaggcg tgtgtgttcc tatattttta ggctcaatta
22920 tgaaggaaat tattctcagc gagcatataa ccgttttgga ggtaaaatga actaaaagca
22980 tataggcctg cctgtttgca taagtacacc ctccgtctaa aaaagaataa aaatctcatt
23040 tcttgatgag tcaaaaaagt tcaaatttaa gaaaatatat gttacgacac gaatatttat
23100 aatgtgtaat aagtaccgct agattaattt taaaataaaa ttttcataat aaacctattt
23160 gaagatacaa gtattgttac tatttctaataaatctaatc aaactgggtgt tatatctttt
23220 ggaacaaatt tgtgctttat gtttctgggt gacgtgaatc agcttaattct tgacgaaatc
taacattgtc tttgttcgt tggcatacag gatcaacaaa aaggagagaa gcagcatcta

23280

ttgttggttaa gaggctatag tcaataccca tgttcatttc gtctaaaaga gcagaagaaa

23340

agcatatgat gaattattgc catgtcatgt ttaaaatata gaattctcaa aaacaaaaac

23400

aaaaaaaaa acttggaatc cactaaccac tgatagcatt gtagaaaatt tcacctctcc

23460

tttgggcaat acactgatga gtttacatgc tgactagtgg tgcatttggt ctttgccaat

23520

tgagttttta gaatgctttg cagctgaatt cacttgatg gtttttttt gtgtgtgatg

23580

cagggtgctgt tgccgttgca ttctgtgtc tagtcattct cacatgcttc ttggcttgta

23640

gacattgttc gctgcccttc aaatcgaaga acaaaccagg gacaaggatt gagtccttcc

23700

tacagaagaa cgagagtagt atacatccga aaagatacac ctacgcggac gtgaaaagaa

23760

tgacaaaatc cttcgctgtg aagctaggcc aagggtgggtt tgggtgctgta tacaaggca

23820

gcctccacga tggccgacag gtagcagtca agatgctgaa ggacacccaa ggtgacggcg

23880

aggaattcat gaacgaggtg gctagcatca gcaggacttc tcatgtcaac gtcgtgacac

23940

ttctagggtt ttgcttgcaa gggtcgaaaa gagcactgat ctacgagtac atgcccaatg

24000

gttcgctcga aaggatatgcc ttcaccggtg acatgaacag tgagaatttg ctaacctggg

24060

aaagactatt tgacatagcg attggcacgg ccagagggct cgaataccta caccggggat

24120

gcaacactcg gatcgtgcat ttgacatca agccacacaa catcctgtta gaccaggatt

24180

tctgccctaa gatctctgac ttggactgg ccaagctatg tctgaacaaa gagagcgcta

24240

tctccattgc tggcgcaaga gggacgatag ggtatatcgc cccggaggtc tactcaaagc

24300

aatttggaac gatcagcagc aagtctgatg tctatagcta tgggatgatg gtccttgaga

24360

tggttggagc aagggacagg aatacaagcg cagatagtga ccatagcagc caatatttcc

24420

ctcagtggct ttatgaacat ttggacgact attgtgttgg tgcttccgag attaatgggtg

24480

agaccacaga gctcgtgagg aagatgatag ttgtaggtct gtggtgcata caagtgattc

24540

cgactgatcg accaacaatg acgagagtcg tcgagatgtt ggaaggaagc acaagtaatc

24600

tagagttgcc acccagagtt ctcttgagct ga

24632

<210> 2

<211> 2004

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> кДНК, отримана з гена Нт2 (SEQ ID NO: 1)

<400> 2

atggctgctc acctaccacg cctccccgtc ctctcctcg tcctcctcg tgcccatgtc

60

gtctccacct ccgccccatgc cgagcctcct ctcccgagcc cttacagcac ctccgcccat

120

ggcgagcctc ctcttccgag cacttacaac gtctccatgt gctcggaatc gttctgggtgc

180

ggcggcgctg aaatccgcta cccgttctat ctgccaacg caaccgccga ctacagcggg

240

agctactact cctgcggcta caccgacttg agcgtttcct gcaaactcga ggtcgagggg

300

ccgacgacga catggacccc taccatccgt ctcggcggcg acaactacac cgtcaagaac

360

atcttgtacg actatcatac catctcactg gcggacagcg atgtgctcgg aggcggcgag

420

tgccccgtcg tccaccacaa cgtcagcttc gacgagacgt ggctgcacaa cccagcgcc

480

ttcgacaacc tcaccttctt cttcggatgc cactgggggc cagcgatac actgcctgaa

540

600 tttgccggca acaacatcag ctgcgccggg ttcagtactc cagctatcag cgggtggaggc
660 tccttcgtgt tcaagcctga agatcttgac gaacatgcgg agcaggagtt ggcttcacac
720 tgcgacgagg ttttctccgt gccagtgaga agcgaggctc tgcagcaggc gatcgtcagc
780 aacctcagcc tcggggacgg gtacggcgag ctgcttaggc aggggatcga gttggaatgg
840 aaacggacat cggaggatca gtgtggccag tgcgaggaat cgggctccgg cggacgggtgc
900 gcctacagcc agaagagaga attccttggc tgcttctgca gcggagggaa ggcgggcaac
960 ccgttctgca aaccatcaag atcaacaaaa aggagagaag cagcatctat tgttggtgct
1020 gttgccgttg cattcctgtg tctagtcatt ctacatgct tcttggttg tagacattgt
1080 tcgctgccct tcaaatcgaa gaacaaacca gggacaagga ttgagtcctt cctacagaag
1140 aacgagagta gtatacatcc gaaaagatac acctacgcgg acgtgaaaag aatgacaaaa
1200 tccttcgctg tgaagctagg ccaaggtggg tttggtgctg tatacaaagg cagcctccac
1260 gatggccgac aggtagcagt caagatgctg aaggacaccc aaggtgacgg cgaggaattc
1320 atgaacgagg tggctagcat cagcaggact tctcatgtca acgtcgtgac acttctaggg
1380 ttttgcttgc aagggtcgaa aagagcactg atctacgagt acatgcccaa tggttcgctc
1440 gaaaggtatg ccttcaccgg tgacatgaac agtgagaatt tgctaacctg ggaaagacta
1500 tttgacatag cgattggcac ggccagaggg ctcgaatacc tacaccgggg atgcaacact
1560 cggatcgtgc attttgacat caagccacac aacatcctgt tagaccagga tttctgccct
1620 aagatctctg actttggact ggccaagcta tgtctgaaca aagagagcgc tatctccatt

1680 gctggcgcaa gagggacgat agggatatatc gccccggagg tctactcaaa gcaatttgga
 1740 acgatcagca gcaagtctga tgtctatagc tatgggatga tggtccttga gatggttgga
 1800 gcaagggaca ggaataacaag cgcagatagt gaccatagca gccaatatct ccctcagtgg
 1860 ctttatgaac atttggacga ctattgtgtt ggtgcttccg agattaatgg tgagaccaca
 1920 gagctcgtga ggaagatgat agttgtaggt ctgtgggtgca tacaagtgat tccgactgat
 1980 cgaccaacaa tgacgagagt cgtcgagatg ttggaaggaa gcacaagtaa tctagagttg
 2004 ccacccagag ttctcttgag ctga

<210> 3
 <211> 667
 <212> ПРТ
 <213> Кукурудза Zea mays

<400> 3

Met Ala Ala His Leu Pro Arg Leu Pro Val Leu Leu Leu Val Leu Leu
 1 5 10 15

Ala Ala His Val Val Ser Thr Ser Ala His Ala Glu Pro Pro Leu Pro
 20 25 30

Ser Pro Tyr Ser Thr Ser Ala His Gly Glu Pro Pro Leu Pro Ser Thr
 35 40 45

Tyr Asn Val Ser Met Cys Ser Glu Ser Phe Trp Cys Gly Gly Val Glu
 50 55 60

Ile Arg Tyr Pro Phe Tyr Leu Ala Asn Ala Thr Ala Asp Tyr Ser Gly
 65 70 75 80

Ser Tyr Tyr Ser Cys Gly Tyr Thr Asp Leu Ser Val Ser Cys Lys Leu
 85 90 95

Glu Val Glu Gly Pro Thr Thr Thr Trp Thr Pro Thr Ile Arg Leu Gly

100					105					110					
Gly	Asp	Asn	Tyr	Thr	Val	Lys	Asn	Ile	Leu	Tyr	Asp	Tyr	His	Thr	Ile
		115					120					125			
Ser	Leu	Ala	Asp	Ser	Asp	Val	Leu	Gly	Gly	Gly	Glu	Cys	Pro	Val	Val
	130					135					140				
His	His	Asn	Val	Ser	Phe	Asp	Glu	Thr	Trp	Leu	His	Asn	Pro	Ser	Ala
145					150					155					160
Phe	Asp	Asn	Leu	Thr	Phe	Phe	Phe	Gly	Cys	His	Trp	Gly	Pro	Arg	Asp
				165					170					175	
Thr	Leu	Pro	Glu	Phe	Ala	Gly	Asn	Asn	Ile	Ser	Cys	Ala	Gly	Phe	Ser
			180					185					190		
Thr	Pro	Ala	Ile	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Phe	Val	Phe	Lys	Pro	Glu	Asp
		195					200					205			
Leu	Asp	Glu	His	Ala	Glu	Gln	Glu	Leu	Ala	Ser	His	Cys	Asp	Glu	Val
	210					215					220				
Phe	Ser	Val	Pro	Val	Arg	Ser	Glu	Ala	Leu	Gln	Gln	Ala	Ile	Val	Ser
225					230					235					240
Asn	Leu	Ser	Leu	Gly	Asp	Gly	Tyr	Gly	Glu	Leu	Leu	Arg	Gln	Gly	Ile
				245					250					255	
Glu	Leu	Glu	Trp	Lys	Arg	Thr	Ser	Glu	Asp	Gln	Cys	Gly	Gln	Cys	Glu
			260					265					270		
Glu	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Arg	Cys	Ala	Tyr	Ser	Gln	Lys	Arg	Glu	Phe
		275					280					285			
Leu	Gly	Cys	Phe	Cys	Ser	Gly	Gly	Lys	Ala	Gly	Asn	Pro	Phe	Cys	Lys
	290					295					300				
Pro	Ser	Arg	Ser	Thr	Lys	Arg	Arg	Glu	Ala	Ala	Ser	Ile	Val	Gly	Ala
305					310					315					320

Val Ala Val Ala Phe Leu Cys Leu Val Ile Leu Thr Cys Phe Leu Ala
325 330 335

Cys Arg His Cys Ser Leu Pro Phe Lys Ser Lys Asn Lys Pro Gly Thr
340 345 350

Arg Ile Glu Ser Phe Leu Gln Lys Asn Glu Ser Ser Ile His Pro Lys
355 360 365

Arg Tyr Thr Tyr Ala Asp Val Lys Arg Met Thr Lys Ser Phe Ala Val
370 375 380

Lys Leu Gly Gln Gly Gly Phe Gly Ala Val Tyr Lys Gly Ser Leu His
385 390 395 400

Asp Gly Arg Gln Val Ala Val Lys Met Leu Lys Asp Thr Gln Gly Asp
405 410 415

Gly Glu Glu Phe Met Asn Glu Val Ala Ser Ile Ser Arg Thr Ser His
420 425 430

Val Asn Val Val Thr Leu Leu Gly Phe Cys Leu Gln Gly Ser Lys Arg
435 440 445

Ala Leu Ile Tyr Glu Tyr Met Pro Asn Gly Ser Leu Glu Arg Tyr Ala
450 455 460

Phe Thr Gly Asp Met Asn Ser Glu Asn Leu Leu Thr Trp Glu Arg Leu
465 470 475 480

Phe Asp Ile Ala Ile Gly Thr Ala Arg Gly Leu Glu Tyr Leu His Arg
485 490 495

Gly Cys Asn Thr Arg Ile Val His Phe Asp Ile Lys Pro His Asn Ile
500 505 510

Leu Leu Asp Gln Asp Phe Cys Pro Lys Ile Ser Asp Phe Gly Leu Ala
515 520 525

Lys Leu Cys Leu Asn Lys Glu Ser Ala Ile Ser Ile Ala Gly Ala Arg

530

535

540

Gly Thr Ile Gly Tyr Ile Ala Pro Glu Val Tyr Ser Lys Gln Phe Gly
545 550 555 560

Thr Ile Ser Ser Lys Ser Asp Val Tyr Ser Tyr Gly Met Met Val Leu
565 570 575

Glu Met Val Gly Ala Arg Asp Arg Asn Thr Ser Ala Asp Ser Asp His
580 585 590

Ser Ser Gln Tyr Phe Pro Gln Trp Leu Tyr Glu His Leu Asp Asp Tyr
595 600 605

Cys Val Gly Ala Ser Glu Ile Asn Gly Glu Thr Thr Glu Leu Val Arg
610 615 620

Lys Met Ile Val Val Gly Leu Trp Cys Ile Gln Val Ile Pro Thr Asp
625 630 635 640

Arg Pro Thr Met Thr Arg Val Val Glu Met Leu Glu Gly Ser Thr Ser
645 650 655

Asn Leu Glu Leu Pro Pro Arg Val Leu Leu Ser
660 665

<210> 4

<211> 49

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер аллеля HT2/HT3 маркера Affx-91328160

<400> 4

gaaggtcggg gtcaacggat tgggaagatt catatttggt tacatcacg

49

<210> 5

<211> 51

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер альтернативного алелю маркера Affx-91328160

<400> 5

gaaggtagacc aagttcatgc taagggaaga ttcattttg ttacatcac a

51

<210> 6

<211> 29

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Загальний праймер маркера Affx-91328160

<400> 6

ctccacagtt ttactccca agtttagaa

29

<210> 7

<211> 40

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер алелю HT2/HT3 маркера PZE-108095339

<400> 7

gaaggtagga gtcaacggat tcttggtgtg ctgcaggacc

40

<210> 8

<211> 38

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер альтернативного алелю маркера PZE-108095339

<400> 8

gaaggtagacc aagttcatgc ttggcgtgct gcaggact

38

<210> 9

<211> 27

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Загальний праймер маркера PZE-108095339

<400> 9
gtttcgggtt tcagaagtca aacggtt

27

<210> 10
<211> 47
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Праймер алелю НТ2/НТ3 маркера МА0064

<400> 10
gaaggtcgga gtcaacggat tatgaacttc tttttggtcg ttttcgc

47

<210> 11
<211> 48
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Праймер альтернативного алелю маркера МА0064

<400> 11
gaaggtagacc aagttcatgc tgatgaactt ctttttggtc gttttcgt

48

<210> 12
<211> 26
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Загальний праймер маркера МА0064

<400> 12
gctagaacat ggcgtatacg gaacaa

26

<210> 13
<211> 40
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Праймер алелю НТ2/НТ3 маркера МА0063

<400> 13
gaaggtcgga gtcaacggat tggtagagcag ccatggcgga

<210> 14
 <211> 39
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Праймер альтернативного алелю маркера MA0063

<400> 14
 gaaggtgacc aagttcatgc tgtgagcagc catggcggg

39

<210> 15
 <211> 23
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Загальний праймер маркера MA0063

<400> 15
 gtgaacccag ccaacctcgt ctt

23

<210> 16
 <211> 51
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Праймер алелю HT2/HT3 маркера MA0062

<400> 16
 gaaggtgacc aagttcatgc tatctaataca aactgggtgtt atatcttttg g

51

<210> 17
 <211> 53
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Праймер альтернативного алелю маркера MA0062

<400> 17
 gaaggtcgga gtcaacggat taaatctaata caaactgggtg ttatatcttt tgt

53

<210> 18
<211> 29
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Загальний праймер маркера МА0062

29

<400> 18
cacgtcaacc agaaacataa agcacaat

<210> 19
<211> 44
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Праймер алелю НТ2/НТ3 маркера МА0045

44

<400> 19
gaaggtgacc aagttcatgc taacatccca aagcactgaa cgga

<210> 20
<211> 43
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Праймер альтернативного алелю маркера МА0045

43

<400> 20
gaaggtcgga gtcaacggat tacatcccaa agcactgaac ggc

<210> 21
<211> 30
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Загальний праймер маркера МА0045

<400> 21
ccaagaactc tattagattg ttgaatagca

30

<210> 22
<211> 28
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Праймер алелю НТ2/НТ3 маркера Affx-91328160

<400> 22
gggaagattc atatttgttt acatcacg

28

<210> 23
<211> 30
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Праймер альтернативного алелю маркера Affx-91328160

<400> 23
aagggaagat tcatatttgt ttacatcaca

30

<210> 24
<211> 29
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Загальний праймер маркера Affx-91328160

<400> 24
ctccacagtt ttactccca agtttagaa

29

<210> 25
<211> 19
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Праймер алелю НТ2/НТ3 маркера PZE-108095339

<400> 25
cttggcgtgc tgcaggacc

19

<210> 26
<211> 17

<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Праймер альтернативного алелю маркера PZE-108095339

<400> 26
tggcgtgctg caggact

17

<210> 27
<211> 27
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Загальний праймер маркера PZE-108095339

<400> 27
gtttcggggtt tcagaagtca aacgggtt

27

<210> 28
<211> 26
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Праймер алелю НТ2/НТ3 маркера МА0064

<400> 28
atgaacttct ttttggtcgt tttcgc

26

<210> 29
<211> 27
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Праймер альтернативного алелю маркера МА0064

<400> 29
gatgaacttc ttttggtcgt ttttcgt

27

<210> 30
<211> 26
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Загальний праймер маркера MA0064

26

<400> 30
gctagaacat ggcgtatacg gaaca

<210> 31
<211> 19
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Праймер алелю HT2/HT3 маркера MA0063

19

<400> 31
ggtgagcagc catggcgga

<210> 32
<211> 18
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Праймер альтернативного алелю маркера MA0063

18

<400> 32
gtgagcagcc atggcggg

<210> 33
<211> 23
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Загальний праймер маркера MA0063

23

<400> 33
gtgaaccag ccaacctcgt ctt

<210> 34
<211> 30
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Праймер алелю HT2/HT3 маркера MA0062

<400> 34
atctaataca actggtgtta tatcttttgg

30

<210> 35
<211> 32
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Праймер альтернативного алелю маркера MA0062

<400> 35
aaatctaatac aaactggtgt tatatctttt gt

32

<210> 36
<211> 29
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Загальний праймер маркера MA0062

<400> 36
cacgtcaacc agaaacataa agcacaat

29

<210> 37
<211> 23
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Праймер алелю HT2/HT3 маркера MA0045

<400> 37
aacatcccaa agcactgaac gga

23

<210> 38
<211> 22
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Праймер альтернативного алелю маркера MA0045

22 <400> 38
 acatcccaaa gcactgaacg gc

<210> 39
 <211> 30
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Загальний праймер маркера МА0045

30 <400> 39
 ccaagaactc tattagattg ttgaatagca

<210> 40
 <211> 53
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Маркер МА0070

53 <400> 40
 gaaggtcgga gtcaacggat tcaattttct aaaaagattg gcagcaatta att

<210> 41
 <211> 53
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Маркер МА0070

53 <400> 41
 gaaggtgacc aagttcatgc tcaattttct aaaaagattg gcagcaatta atg

<210> 42
 <211> 25
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Маркер МА0070

<220>

<221> інший_ознака
<223> Вироджений код R=A/G

<400> 42
craaccsaaag ttaccgctat aagcc

25

<210> 43
<211> 42
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Маркер MA0071

<400> 43
gaaggtagacc aagttcatgc tgagctagct tgagctcgac cg

42

<210> 44
<211> 42
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Маркер MA0071

<400> 44
gaaggtagga gtcaacggat tgagctagct tgagctcgac ca

42

<210> 45
<211> 25
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Маркер MA0071

<220>
<221> інший_ознака
<223> Вироджений код Y=C/T

<400> 45
gcttatagcg gtaactttgg ttygc

25

<210> 46
<211> 32

<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Маркер МА0070

<400> 46
caattttcta aaaagattgg cagcaattaa tt

32

<210> 47
<211> 32
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Маркер МА0070

<400> 47
caattttcta aaaagattgg cagcaattaa tg

32

<210> 48
<211> 25
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Маркер МА0070

<220>
<221> інший_ознака
<223> Вироджений код R=A/G

<400> 48
craaccsaaag ttaccgctat aagcc

25

<210> 49
<211> 21
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Маркер МА0071

<400> 49
gagctagctt gagctcgacc g

21

<210> 50
<211> 21
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Маркер MA0071

<400> 50
gagctagctt gagctcgacc a

21

<210> 51
<211> 25
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Маркер MA0071

<220>
<221> інший_ознака
<223> Вироджений код Y=C/T

<400> 51
gcttatagcg gtaactttgg ttygc

25

<210> 52
<211> 41
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Маркер Affx-91328160

<220>
<221> інший_ознака
<222> (21)..(21)
<223> Вироджений код R=A/G

<400> 52
ttcatatttg ttacatcac rattctaaac ttgggagtaa a

41

<210> 53
<211> 41
<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Маркер PZE-108095339

<220>

<221> інший_ознака

<222> (21)..(21)

<223> Вироджений код R=A/G

<400> 53

acgtggcgcc agccacgcac rgtcctgcag cacgccaagc a

41

<210> 54

<211> 41

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Маркер MA0064

<220>

<221> інший_ознака

<222> (21)..(21)

<223> Вироджений код Y=C/T

<400> 54

ttcttttttg gtcgttttcg ytcctttgtt ccgtatacgc c

41

<210> 55

<211> 41

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Маркер MA0063

<220>

<221> інший_ознака

<222> (21)..(21)

<223> Вироджений код Y=C/T

<400> 55

ccagccaacc tcgtcttctc yccgccatgg ctgctcacct a

41

<210> 56
<211> 41
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Маркер MA0062

<220>
<221> інший_ознака
<222> (21)..(21)
<223> Вироджений код K=G/T

<400> 56
aactggtggtt atatcttttg kaacaaattt gtgctttatg t

41

<210> 57
<211> 41
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Маркер MA0045

<220>
<221> інший_ознака
<222> (21)..(21)
<223> Вироджений код M=A/C

<400> 57
catcccaag cactgaacgg mtatgccatt actttgacaa t

41

<210> 58
<211> 61
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Маркер MA0070

<220>
<221> інший_ознака
<222> (31)..(31)
<223> Вироджений код K=G/T

<400> 58

60 aattttctaa aaagattggc agcaattaat kggggcttat agcggtaact ttggttygca
t
61

<210> 59
<211> 61
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Маркер МА0071

<220>
<221> інший_ознака
<222> (1)..(1)
<223> Вироджений код R=A/G

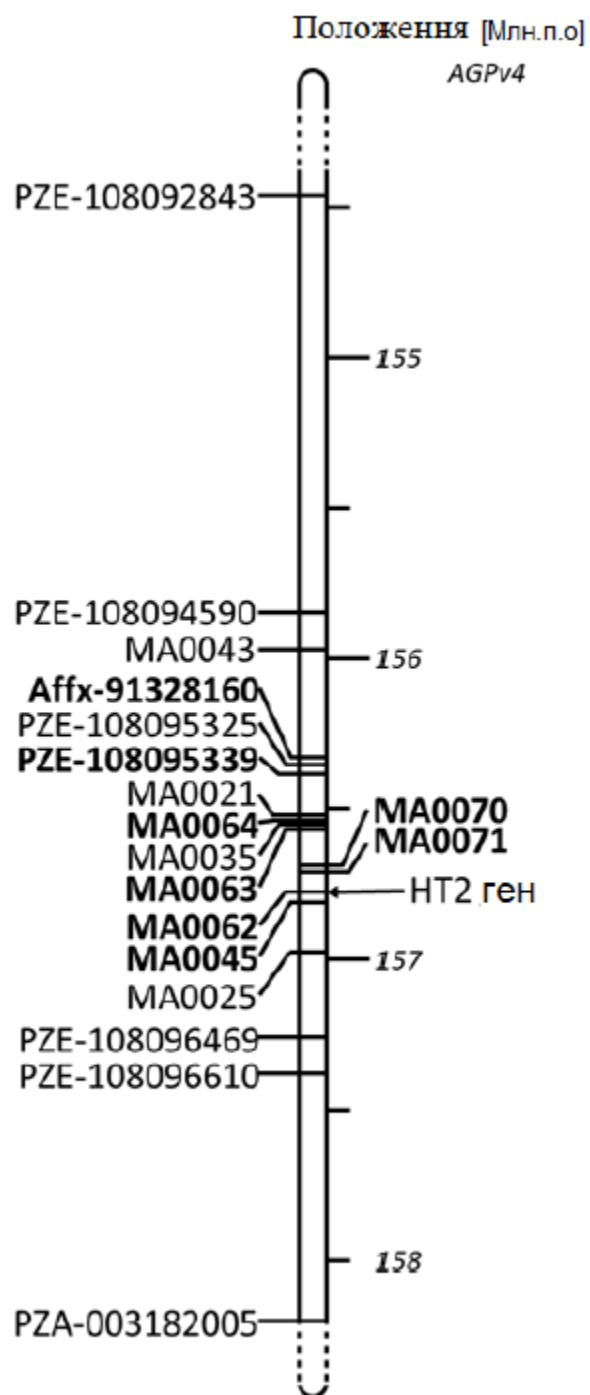
<220>
<221> інший_ознака
<222> (23)..(23)
<223> Вироджений код M=A/C

<220>
<221> інший_ознака
<222> (26)..(26)
<223> Вироджений код Y=C/T

<220>
<221> інший_ознака
<222> (30)..(30)
<223> Вироджений код W=A/T

<220>
<221> інший_ознака
<222> (31)..(31)
<223> Вироджений код Y=C/T

<400> 59
60 rgttgaatat cgatccaact cgmcgyggcw yggtcgagct caagctagct ccgctcagct
с
61



Фіг.