

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 014 554**

51 Int. Cl.:

C12N 15/09 (2006.01)

A01H 1/02 (2006.01)

C12Q 1/68 (2008.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.07.2014 PCT/JP2014/067982**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.01.2015 WO15002318**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.07.2014 E 14819579 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.03.2025 EP 3018205**

54 Título: **Marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz para plantas de tomate, planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz, método de producción para plantas de tomate resistentes a nematodos del nudo de la raíz y método de cribado para plantas de tomate resistentes a nematodos del nudo de la raíz**

30 Prioridad:

05.07.2013 JP 2013141865

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

23.04.2025

73 Titular/es:

**TAKII & COMPANY LIMITED (100.00%)
180 Minamiebisu-cho, Inokuma-Higashi-iru,
Umekoji-dori, Shimogyo-ku, Kyoto-shi
Kyoto 600-8686, JP**

72 Inventor/es:

**FUKUNAGA YUTAKA;
YOKOKAWA TAKEHIRO;
KOSUGI KAZUO;
ARIMOTO RYOHEI;
ENDO MAKOTO y
AOIKE HITOMI**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 3 014 554 T3

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

DESCRIPCIÓN

Marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz para plantas de tomate, planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz, método de producción para plantas de tomate resistentes a nematodos del nudo de la raíz y método de cribado para plantas de tomate resistentes a nematodos del nudo de la raíz

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz para plantas de tomate, planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz, el uso de un marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz para identificar un locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz de una planta de tomate, y a un método de cribado para una planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz.

10 **Técnica anterior**

En el cultivo de plantas de tomate, los daños causados por insectos por nematodos del nudo de la raíz son un problema grave en todo el mundo. Por ejemplo, los cuerpos de las plantas infectadas con los nematodos del nudo de la raíz crecen mal o pueden marchitarse. Por lo tanto, el daño causado por los nematodos del nudo de la raíz conduce a la reducción del rendimiento total de las plantas de tomate, y se estima que la cantidad de daños alcanza al menos los 100 mil millones de yenes (Documento No de Patente 1). En consecuencia, con el objetivo de prevenir la infección con nematodos del nudo de la raíz, se realizan tratamientos térmicos del suelo, esterilización del suelo usando un nematicida del nudo de la raíz, etc. para exterminar los nematodos del nudo de la raíz. Sin embargo, estos métodos requieren una gran cantidad de mano de obra y un gran costo.

En los últimos años, con el fin de abordar dichos problemas, se han realizado intentos de crear cultivares de tomate resistentes a varios nematodos del nudo de la raíz utilizando genes de resistencia a los nematodos del nudo de la raíz. Específicamente, se ha informado de que los cultivares de tomate resistentes al nematodo del nudo de la raíz del sur (*Meloidogyne incognita*), el nematodo del nudo de la raíz en la raíz del maní (*Meloidogyne arenaria*), el nematodo del nudo de la raíz de Java (*Meloidogyne javanica*), y similares se criaron utilizando un gen de resistencia Mi-1 derivado de *Solanum peruvianum*. Sin embargo, se ha revelado que los cultivares de tomate que tienen el gen de resistencia Mi-1 tienen un problema debido a que el gen de resistencia Mi-1 no funciona en un entorno con una temperatura del suelo de 28 °C o superior (Documento No de Patente 2).

Por este motivo, se han realizado más investigaciones sobre genes de resistencia que funcionan sin depender de las condiciones de temperatura. Las especies de tomate silvestre resistentes al nematodo del nudo de la raíz *S. peruvianum* PI270435, PI126443, LA1708 y LA2157 tienen genes de resistencia que no dependen de las condiciones de temperatura, y se ha informado que Mi-2, Mi-3, Mi-4, Mi-5, Mi-6, Mi-7, Mi-8, Mi-9, etc., son genes de resistencia derivados de ellos. Además, se ha informado que, entre estos genes de resistencia, Mi-3 está localizado en el cromosoma 12 y Mi-9 está localizado en el cromosoma 6 (Documentos No de Patente 1, 3, 4 y 5). Sin embargo, las plantas de *S. peruvianum* que tienen estos genes de resistencia muestran una baja compatibilidad cruzada con plantas de *Solanum lycopersicum* cultivadas generalmente como tomates comestibles. Esto hace que sea muy difícil la producción de semillas de plantas de *S. lycopersicum* que tengan los genes de resistencia anteriores.

En estas circunstancias, en la actualidad sólo se utiliza en variedades de plantas de tomate disponibles comercialmente el gen de resistencia Mi-1 obtenido mediante la selección de individuos resistentes al nematodo del nudo de la raíz después del cruzamiento y el cultivo de embriones, aunque la resistencia a nematodos del nudo de la raíz conferida por el gen de resistencia Mi-1 tiene el problema de la dependencia de la temperatura descrita anteriormente.

40 **Lista de citas****Documento(s) No de Patente**

Documento No de Patente 1: Teresa Blevé-Zacheo et al., The Contribution of Biotechnology to Root-Knot Nematode Control in Tomato Plants Pest Technology (2007), volumen 1, número 1, p. 1-16

Documento No de Patente 2: Yinlei Wang et al., Mapping of a Heat-Stable Gene for Resistance to Southern Root-Knot Nematode in *Solanum lycopersicum* Plant Molecular Biology Reporter, abril 2013, Volumen 31, Número 2, p. 352-362

Documento No de Patente 3: J. Yaghoobi et al., Mapping a new nematode resistance locus in *Lycopersicon peruvianum* Theoretical and applied genetics (1995) 91, p. 457-464

Documento No de Patente 4: G.B. Cap et al., Inheritance of heat-stable resistance to *Meloidogyne incognita* in *Lycopersicon peruvianum* and its relationship to the Mi gene Theoretical and applied genetics (1993) 85, p. 777-783

Documento No de Patente 5: J.C. Veremis et al., Mapping a novel heat-stable resistance to *Meloidogyne* in *Lycopersicon peruvianum* Theoretical and applied genetics (1999) 98, p. 274-280

Breve resumen de la invención**Problema que se pretende resolver con la invención**

- 5 Con lo anterior en mente, un objeto de la presente invención es proporcionar: un marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz para plantas de tomate, que exhibe resistencia a nematodos del nudo de la raíz heredada de manera dominante; una nueva planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz que incluye un locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz dominante y exhibe resistencia a nematodos del nudo de la raíz sin depender de las condiciones de temperatura en un entorno de crecimiento; y un método de cribado para una planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz.

Medios para resolver el problema

- 10 Con el fin de lograr el objetivo anterior, la presente invención proporciona el uso de un marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz para identificar un locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz del cromosoma 4 de una planta de tomate identificada con el No. de Acceso FERM BP-22251, marcador que es al menos un marcador SNP seleccionado del grupo que consiste en: (a) YK66, (b) TY38, (c) AR02 y (d) HT12, en donde:

(a) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 21;

- 15 (b) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 22;

(c) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 23;

(d) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 24.

- 20 La presente invención también proporciona un método de cribado para una planta de tomate resistente a los nematodos del nudo de la raíz para seleccionar un progenitor para producir una planta de tomate resistente a los nematodos del nudo de la raíz mediante cruzamiento, comprendiendo el método de cribado la etapa de seleccionar una planta de tomate que comprende un locus de resistencia a los nematodos del nudo de la raíz en el cromosoma 4 de una o más plantas de tomate a examinar, en donde el locus de resistencia a los nematodos del nudo de la raíz se identifica utilizando un marcador de resistencia a los nematodos del nudo de la raíz, marcador que es al menos un marcador SNP seleccionado del grupo que consiste en: (a) YK66, (b) TY38, (c) AR02, y (d) HT12, en donde:

- 25 (a) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 21;

(b) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 22;

(c) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 23; y

(d) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 24.

- 30 La presente invención también proporciona un marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz para identificar un locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz del cromosoma 4 de una planta de tomate identificada con el No. de Acceso FERM BP-22251, marcador que es al menos un marcador SNP seleccionado del grupo que consiste en (a) YK66, (b) TY38, (c) AR02 y (d) HT12, en donde:

(a) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 21;

(b) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 22;

- 35 (c) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 23;

(d) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 24.

- 40 La presente invención también proporciona una planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz que comprende un locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el cromosoma 4 caracterizado por un marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz, marcador que es al menos un marcador SNP seleccionado del grupo que consiste en: (a) YK66, (b) TY38, (c) AR02 y (d) HT12, en donde:

(a) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 21;

(b) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 22;

(c) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 23; y

(d) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 24,

- 45 en donde el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz en la planta de tomate comprende el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz de la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz

identificado por el No. de Acceso FERM BP-22251.

Otros aspectos y realizaciones preferidas se definen en las reivindicaciones dependientes. Cualesquiera aspectos, realizaciones y ejemplos de la presente divulgación que no se encuentren dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas no forman parte de la invención y se proporcionan únicamente con fines ilustrativos.

5 Efectos de la invención

Los inventores de la presente invención llevaron a cabo estudios diligentes y descubrieron un locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el cromosoma 4 como marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz para plantas de tomate (también denominado simplemente "marcador de resistencia" de aquí en adelante en la presente memoria) que exhibe resistencia a nematodos del nudo de la raíz hereditaria dominante. Una planta de tomate que incluye el marcador de resistencia descrito anteriormente exhibe resistencia a nematodos del nudo de la raíz hereditaria dominante. Por lo tanto, el marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz para plantas de tomate según se divulga en la presente memoria permite un cribado fácil de una planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz, por ejemplo. Además, la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz divulgada en la presente memoria incluye, por ejemplo, el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el cromosoma 4, de modo que puede exhibir resistencia a nematodos del nudo de la raíz sin depender de las condiciones de temperatura en un entorno de crecimiento, por ejemplo. Además, debido a que la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz divulgada en la presente memoria incluye, por ejemplo, un locus de gen de resistencia dominante, es posible obtener progenies que exhiban resistencia a nematodos del nudo de la raíz heredada de manera dominante mediante el cruzamiento con otras plantas de tomate. Además, debido a que la presente divulgación puede eliminar la necesidad de tratamientos del suelo realizados de manera convencional, también se puede evitar, por ejemplo, el problema de la mano de obra y el costo de los tratamientos del suelo.

Breve descripción de los dibujos

[FIG. 1] La FIG. 1 es una fotografía que muestra los criterios de evaluación de la gravedad de las agallas en las raíces en plantas de tomate en el Ejemplo 1.

[FIG. 2] La FIG. 2 es una vista esquemática que muestra las localizaciones cromosómicas relativas de los marcadores SNP (polimorfismo de nucleótido único).

Modo de llevar a cabo la invención

La invención se define en las reivindicaciones adjuntas. Cualesquiera aspectos, realizaciones y ejemplos de la presente divulgación que no se encuentren dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas no forman parte de la invención y se proporcionan únicamente con fines ilustrativos.

1. Marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz para plantas de tomate

Como se describió anteriormente, el marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz para plantas de tomate se utiliza para identificar un locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el cromosoma 4.

Las "plantas de tomate" son plantas clasificadas en *Section Lycopersicon* en el subgénero *Solmum sensu stricto* del género *Solanum*. Los ejemplos específicos del mismo incluyen: *S. lycopersicum*, *S. peruvianum*, *S. arcanum* Peralta, *S. chilense*, *S. corneliomulleri*, *S. huaylasense* Peralta, *S. cheesmaniae* (L. Riley) Fosberg, *S. chmielewskii*, *S. galapagense* S. C. Darwin y Peralta, *S. habrochaites*, *S. neorickii*, *S. pennelli*, y *S. pimpinellifolium*. Entre ellos, *S. lycopersicum* es preferible porque se puede cruzar fácilmente.

El nematodo del nudo de la raíz puede ser, por ejemplo, el nematodo del nudo de la raíz del sur, el nematodo del nudo de la raíz del maní, el nematodo del nudo de la raíz de Java o *Meloidogyne microcephala*.

El término "resistencia a nematodos del nudo de la raíz" tal como se utiliza en la presente memoria también puede denominarse "tolerancia a nematodos del nudo de la raíz", por ejemplo. La resistencia significa la capacidad de inhibir o suprimir la aparición y progresión del daño debido a la infección con nematodos del nudo de la raíz, por ejemplo. Específicamente, la resistencia puede significar cualquiera de los siguientes, por ejemplo: prevenir que se produzca el daño; detener la progresión del daño que ya se ha producido y suprimir (o inhibir) la progresión del daño que ya se ha producido.

El marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz se utiliza para identificar el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el cromosoma 4. Sin embargo, cabe señalar que una planta de tomate que tenga el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz puede tener el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz, en lugar de en el cromosoma 4, en cualquier cromosoma distinto del cromosoma 4, por ejemplo. Es decir, la planta de tomate que incluye un locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz puede tener el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz descrito anteriormente en el cromosoma 4 en cualquiera del cromosoma 1, cromosoma 2, cromosoma 3, cromosoma 5, cromosoma 6, cromosoma 7, cromosoma 8, cromosoma 9, cromosoma 10, cromosoma 11 y cromosoma 12.

El locus del gen de resistencia a nematodos del nudo de la raíz se refiere a un locus de rasgo cuantitativo o a una región génica que confiere resistencia a nematodos del nudo de la raíz. En general, QTL (locus de rasgo cuantitativo) se refiere a una región cromosómica que está involucrada en la expresión de un rasgo cuantitativo. El QTL se puede especificar utilizando un marcador molecular que indica un locus específico en un cromosoma. La técnica para especificar el QTL utilizando el marcador molecular es bien conocida en la técnica.

En la presente divulgación, un marcador molecular utilizado para especificar el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz no está particularmente limitado. Los ejemplos del marcador molecular incluyen marcadores SNP, marcadores AFLP (polimorfismo de longitud de fragmento amplificado), marcadores RFLP (polimorfismo de longitud de fragmento de restricción), marcadores de microsatélites, marcadores SCAR (región amplificada caracterizada por secuencia) y marcadores CAPS (secuencia polimórfica amplificada escindida).

En la presente divulgación, se puede utilizar un marcador SNP, o se pueden utilizar dos o más marcadores SNP en combinación, por ejemplo.

En la presente divulgación, el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz puede especificarse (también denominado "identificarse" de aquí en adelante en la presente memoria) mediante, por ejemplo: (1) el marcador SNP; (2) una secuencia de bases que incluye el marcador SNP; (3) una secuencia de bases en una región entre los sitios de dos marcadores SNP; o cualquier combinación de los mismos. Cuando el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz se especifica mediante cualquier combinación de (1) a (3), la combinación no está particularmente limitada, y los ejemplos de la misma incluyen las siguientes combinaciones:

la combinación de (1) y (2);

la combinación de (1) y (3);

la combinación de (2) y (3); y

la combinación de (1), (2) y (3).

(1) Identificación por marcador SNP

El locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz puede especificarse mediante el marcador SNP, como se describe en el ítem (1) anterior, por ejemplo. El marcador SNP no está particularmente limitado, y los ejemplos del mismo incluyen solcap_snp_sl_21346, solcap_snp_sl_21364, TK43, YU06, YK66, TY38, AR02, HT12, solcap_snp_sl_64250, solcap_snp_sl_21383, solcap_snp_sl_21385 y solcap_snp_sl_21390. La indicación de los marcadores SNP como "solcap_snp_sl_[número específico]" es evidente para los expertos en la técnica en vista del conocimiento técnico general común desde la fecha de presentación de la presente solicitud. La información sobre los marcadores SNP está disponible en el sitio web de la Red SOL Genomics (<http://solgenomics.net/>). TK43, YU06, YK66, TY38, AR02 y HT12 son marcadores SNP recientemente identificados por los inventores de la presente invención, y los expertos en la técnica pueden identificar las localizaciones cromosómicas de estos marcadores SNP basándose en las secuencias de bases que incluyen los marcadores SNP que se describirán a continuación. En cuanto al análisis de estos SNP, se puede hacer referencia, por ejemplo, a la siguiente bibliografía.

Bibliografía: Hamilton JP, Sim SC, Stoffel K, Van Deynze A, Buell CR, et al. (2012) Single Nucleotide Polymorphism Discovery in Cultivated Tomato via Sequencing by Synthesis. The Plant Genome 5.

Bibliografía: Sim S-C, Durstewitz G, Plieske J, Wieseke R, Ganai MW, et al. (2012) Development of a Large SNP Genotyping Array and Generation of High-Density. Genetic Maps in Tomato. PLoS ONE 7(7)

Bibliografía: Blanca J, Cañizares J, Cordero L, Pascual L, Díez MJ, et al. (2012) Variation Revealed by SNP Genotyping and Morphology Provides Insight into the Origin of the Tomato. PLoS ONE 7 (10)

El solcap_snp_sl_21346 (también denominado "SNP (a)" de aquí en adelante en la presente memoria) es un polimorfismo tal que la base subrayada entre corchetes en la SEQ ID NO: 15 es G, por ejemplo. Es decir, por ejemplo, una planta de tomate es resistente a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es G, y es susceptible a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es distinta de G (por ejemplo, A). La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 15 se puede obtener de la planta de tomate depositada con el No. de Acceso FERM BP-22251 que se describirá a continuación, por ejemplo.

SEQ ID NO: 15

5'-CCAGAAATTTATCGTGCTGGA[G]GTTCTTGGAAGTGCATGGAG-3'

El SNP (a) se puede identificar en base a información conocida en la base de datos del sitio web descrito anteriormente, etc., por ejemplo. La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 1 es idéntica a la secuencia de bases de Heinz (Nombre de Cultivar: Heinz 1706) excepto por el SNP (a), por ejemplo, y la base subrayada entre corchetes es un polimorfismo correspondiente al SNP (a). Es decir, por ejemplo, una planta de tomate es resistente a nematodos

del nudo de la raíz cuando la base subrayada es G, y es susceptible a los nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es distinta de G (por ejemplo, A). Por lo tanto, la localización del SNP (a) se puede identificar en base a información sobre la secuencia de bases conocida de Heinz, por ejemplo.

SEQ ID NO: 1

5'-ATGCTTTCTTCAACTCCGACTTCTGTAATACCAGAATTTATCGTGGTGG
A[G]GTTCCGGGAAGTGCATGGAGGAAGGTTTAAACCCAGTTCAATCCA
TATA-3'

- 5 El solcap_snp_sl_21364 (también denominado "SNP (b)" de aquí en adelante en la presente memoria) es un polimorfismo tal que la base subrayada entre corchetes en la SEQ ID NO: 17 es T, por ejemplo. Es decir, por ejemplo, una planta de tomate es resistente a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es T, y es susceptible a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es distinta de T (por ejemplo, C). La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 17 se puede obtener de la planta de tomate depositada con el No. de Acceso FERM BP-22251 que se describirá a continuación, por ejemplo.

SEQ ID NO: 17

5'-GTTAGTAGCAATTCA[T]GATGATCGATGGATC-3'

- 15 El SNP (b) se puede identificar en base a información conocida en la base de datos del sitio web descrito anteriormente, etc., por ejemplo. La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 8 es idéntica a la secuencia de bases de Heinz excepto por el SNP (b), por ejemplo, y la base subrayada entre corchetes es un polimorfismo correspondiente al SNP (b). Es decir, por ejemplo, una planta de tomate es resistente a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es T, y es susceptible a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es distinta de T (por ejemplo, C). Por lo tanto, la localización del SNP (b) se puede identificar en base a información sobre la secuencia de bases conocida de Heinz, por ejemplo.

SEQ ID NO: 8

5'-TGGTGAAGAAGCTTGATCGAGTTGGTGCCCGCCTTGTTAGTAGCAATT
CA[T]GATGATCGATGGATCAATCAATCAATCAACTATGCCTCAATTCCAAA
CGA-3'

- 20 El TK43 (también denominado "SNP (c)" de aquí en adelante en la presente memoria) es un polimorfismo tal que las bases subrayadas entre corchetes en la SEQ ID NO: 18 son TA, por ejemplo. Es decir, por ejemplo, una planta de tomate es resistente a nematodos del nudo de la raíz cuando las bases subrayadas son TA, y es susceptible a nematodos del nudo de la raíz cuando las bases subrayadas son distintas de TA (por ejemplo, AC). La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 18 se puede obtener de la planta de tomate depositada con el No. de Acceso FERM BP-22251 que se describirá a continuación, por ejemplo.

SEQ ID NO: 18

5'-AAGAAGGTGAATATT[TA]ACTGTATGATCCCCA-3'

- 30 El SNP (c) se puede identificar en base a información conocida en la base de datos del sitio web descrito anteriormente, etc., por ejemplo. La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 9 es idéntica a la secuencia de bases de Heinz excepto por el SNP (c), por ejemplo, y la base subrayada entre corchetes es un polimorfismo correspondiente al SNP (c). Es decir, por ejemplo, una planta de tomate es resistente a nematodos del nudo de la raíz cuando las bases subrayadas son TA, y es susceptible a nematodos del nudo de la raíz cuando las bases subrayadas son distintas de TA (por ejemplo, AC). Por lo tanto, la localización del SNP (c) se puede identificar en base a información sobre la secuencia de bases conocida de Heinz, por ejemplo.

SEQ ID NO: 9

5'-TAACAAAAGGCAAATTAATGGGAACAAGGGACTGACATCAGGAGCTTC
CAAAGTCATATTTTAGGTCTTAGGCAAAGAAGGTGATAATT[TA]ACTGTAT
GATCCCCATCAGGCCTTCAAAGACATTGCTAAAA-3'

- 35 El YU06 (también denominado "SNP (d)" de aquí en adelante en la presente memoria) es un polimorfismo tal que la base subrayada entre corchetes en la SEQ ID NO: 19 es C, por ejemplo. Es decir, por ejemplo, una planta de tomate

es resistente a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es C, y es susceptible a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es distinta de C (por ejemplo, T). La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 19 se puede obtener de la planta de tomate depositada con el No. de Acceso FERM BP-22251 que se describirá a continuación, por ejemplo.

SEQ ID NO: 19

5'-GGTAAGGATAGCTAAAGATATGGTGGAAAAGTGTAGAGGCTTACCTCT
TGCAAT[C]GTTGTATTGAGCGGACTACTTTACATAAAAGGGGGCTAGAC
5 CAATGGCAAAAAGTGAAAGATCACT-3'

El SNP (d) se puede identificar en base a información conocida en la base de datos del sitio web descrito anteriormente, etc., por ejemplo. La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 10 es idéntica a la secuencia de bases de Heinz excepto por el SNP (d), por ejemplo, y la base subrayada entre corchetes es un polimorfismo correspondiente al SNP (d). Es decir, por ejemplo, una planta de tomate es resistente a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es C, y es susceptible a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es distinta de C (por ejemplo, T). Por lo tanto, la localización del SNP (d) se puede identificar en base a información sobre la secuencia de bases conocida de Heinz, por ejemplo.

SEQ ID NO: 10

5'-AGCTAAAGATATGGTGGAAAAGTGTAGAGGCTTACCTCTTGCAAT[C]G
TTGTATTGAGCGGACTACTTTACATAAAAGGGGGCTAGACCAATGGCAA
AAAGTGAA-3

El YK66 (también denominado "SNP (e)" de aquí en adelante en la presente memoria) es un polimorfismo tal que la base subrayada entre corchetes en la SEQ ID NO: 21 es C, por ejemplo. Es decir, por ejemplo, una planta de tomate es resistente a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es C, y es susceptible a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es distinta de C (por ejemplo, G). La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 21 se puede obtener de la planta de tomate depositada con el No. de Acceso FERM BP-22251 que se describirá a continuación, por ejemplo.

SEQ ID NO: 21

20 5'-CTCAAACCTCATTTCAG[C]CAAAGACGCTCTATCA-3'

El SNP (e) se puede identificar en base a información conocida en la base de datos del sitio web descrito anteriormente, etc., por ejemplo. La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 12 es idéntica a la secuencia de bases de Heinz excepto por el SNP (e), por ejemplo, y la base subrayada entre corchetes es un polimorfismo correspondiente al SNP (e). Es decir, por ejemplo, una planta de tomate es resistente a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es C, y es susceptible a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es distinta de C (por ejemplo, G). Por lo tanto, la localización del SNP (e) se puede identificar en base a información sobre la secuencia de bases conocida de Heinz, por ejemplo.

SEQ ID NO: 12

5'-TATTCATGAACAAAAACAGTGAGAAAAATGTGTCATACGACTCAAAC
TCATTTCAG[C]CAAAGACGCTCTATCAATATTGTCCAGTTATTAATAATAACT
TTTTTTTTTTCTGTTTGC-3'

El TY38 (también denominado "SNP (f)" de aquí en adelante en la presente memoria) es un polimorfismo tal que la base subrayada entre corchetes en la SEQ ID NO: 22 es A, por ejemplo. Es decir, por ejemplo, una planta de tomate es resistente a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es A, y es susceptible a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es distinta de A (por ejemplo, C). La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 22 se puede obtener de la planta de tomate depositada con el No. de Acceso FERM BP-22251 que se describirá a continuación, por ejemplo.

SEQ ID NO: 22

35 5'-CTAGACAACTCTTCTATTAG[A]ACACCATAAACAGAAATGTC-3'

El SNP (f) se puede identificar en base a información conocida en la base de datos del sitio web descrito anteriormente,

etc., por ejemplo. La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 2 es idéntica a la secuencia de bases de Heinz excepto por el SNP (f), por ejemplo, y la base subrayada entre corchetes es un polimorfismo correspondiente al SNP (f). Es decir, por ejemplo, una planta de tomate es resistente a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es A, y es susceptible a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es distinta de A (por ejemplo, C). Por lo tanto, la localización del SNP (f) se puede identificar en base a información sobre la secuencia de bases conocida de Heinz, por ejemplo.

SEQ ID NO: 2

5'-CGTACAGCTGCATAGCTTTCTCAATCTCCTTATTCTAGACAACTCTTC
TATTAG[A]ACGCCATAAACAGAAATGTCCAGCACAAAACCCAATTTCTTC
ATTTTATCCAACAGTTGC-3'

El AR02 (también denominado "SNP (g)" de aquí en adelante en la presente memoria) es un polimorfismo tal que la base subrayada entre corchetes en la SEQ ID NO: 23 es G, por ejemplo. Es decir, por ejemplo, una planta de tomate es resistente a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es G, y es susceptible a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es distinta de G (por ejemplo, A). La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 23 se puede obtener de la planta de tomate depositada con el No. de Acceso FERM BP-22251 que se describirá a continuación, por ejemplo.

SEQ ID NO: 23

5'-GGCATTGACAGTGCT[G]ATGAAGATGATGAAA-3'

El SNP (g) se puede identificar en base a información conocida en la base de datos del sitio web descrito anteriormente, etc., por ejemplo. La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 11 es idéntica a la secuencia de bases de Heinz excepto por el SNP (g), por ejemplo, y la base subrayada entre corchetes es un polimorfismo correspondiente al SNP (g). Es decir, por ejemplo, una planta de tomate es resistente a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es G, y es susceptible a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es distinta de G (por ejemplo, A). Por lo tanto, la localización del SNP (g) se puede identificar en base a información sobre la secuencia de bases conocida de Heinz, por ejemplo.

SEQ ID NO: 11

5'-GCTGTGCAATGACTTTTGCATTTCAGGTCCTGGAACCTTGGGGCATTGAC
AGTGCT[G]ATGAAGATGATGAAATCTCACACCACGGAAGAAGCTGTAAA
AGCATTATTT-3'

El HT12 (también denominado "SNP (h)" de aquí en adelante en la presente memoria) es un polimorfismo tal que la base subrayada entre corchetes en la SEQ ID NO: 24 es C, por ejemplo. Es decir, por ejemplo, una planta de tomate es resistente a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es C, y es susceptible a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es distinta de C (por ejemplo, A). La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 24 se puede obtener de la planta de tomate depositada con el No. de Acceso FERM BP-22251 que se describirá a continuación, por ejemplo.

SEQ ID NO: 24

5'-GAAAAGCACCTAGAGGAATAAAAAC[C]AATTGGATTATGCACGAGTAC
CGCC-3'

El SNP (h) se puede identificar en base a información conocida en la base de datos del sitio web descrito anteriormente, etc., por ejemplo. La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 7 es idéntica a la secuencia de bases de Heinz excepto por el SNP (h), por ejemplo, y la base subrayada entre corchetes es un polimorfismo correspondiente al SNP (h). Es decir, por ejemplo, una planta de tomate es resistente a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es G, y es susceptible a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es distinta de G (por ejemplo, T). Por lo tanto, la localización del SNP (h) se puede identificar en base a información sobre la secuencia de bases conocida de Heinz, por ejemplo. La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 7 es la secuencia de bases de una cadena de ADN complementaria a una cadena de ADN que incluye la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 24, por ejemplo. Es decir, por ejemplo, G como SNP (h) en la SEQ ID NO: 7 es una base complementaria a C como SNP (h) en la SEQ ID NO: 24.

SEQ ID NO: 7

5'-TTGCCAGCAGAGCGGTCCACGTTGGCGAGGCGGTACTCGTGCATAAT
CCAATT[G]GTTTTTATACCTCTGGGTGCTTTTCCGGCATAGAACACAAGT
GCC-3'

El solcap_snp_sl_64250 (también denominado "SNP (i)" de aquí en adelante en la presente memoria) es un polimorfismo tal que la base subrayada entre corchetes en la SEQ ID NO: 13 es G, por ejemplo. Es decir, por ejemplo, una planta de tomate es resistente a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es G, y es susceptible a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es distinta de G (por ejemplo, A). La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 13 se puede obtener de la planta de tomate depositada con el No. de Acceso FERM BP-22251 que se describirá a continuación, por ejemplo.

SEQ ID NO: 13

5'-AGGGTTTGAAGACGA[G]GCAAGAATCTGGCAT3'

El SNP (i) se puede identificar en base a información conocida en la base de datos del sitio web descrito anteriormente, etc., por ejemplo. La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 3 es idéntica a la secuencia de bases de Heinz excepto por el SNP (i), por ejemplo, y la base subrayada entre corchetes es un polimorfismo correspondiente al SNP (i). Es decir, por ejemplo, una planta de tomate es resistente a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es G, y es susceptible a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es distinta de G (por ejemplo, A). Por lo tanto, la localización del SNP (i) se puede identificar en base a información sobre la secuencia de bases conocida de Heinz, por ejemplo.

SEQ ID NO: 3

5'-TTGGAGATCGGGTCAGCTTGTGTGCCACAGAGGAGAGGGTTTGAAGA
CGA[G]GCAAGAATCTGGCATCTTATGCAACAAAAACCTTTAGATCAAGGG
AAATT-3'

El solcap_snp_sl_21383 (también denominado "SNP (j)" de aquí en adelante en la presente memoria) es un polimorfismo tal que la base subrayada entre corchetes en la SEQ ID NO: 14 es T, por ejemplo. Es decir, por ejemplo, una planta de tomate es resistente a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es T, y es susceptible a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es distinta de T (por ejemplo, A). La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 14 se puede obtener de la planta de tomate depositada con el No. de Acceso FERM BP-22251 que se describirá a continuación, por ejemplo.

SEQ ID NO: 14

5'-ATTATAGTCTTACTTT[T]AATGAATAAGCAACT-3'

El SNP (j) se puede identificar en base a información conocida en la base de datos del sitio web descrito anteriormente, etc., por ejemplo. La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 4 es idéntica a la secuencia de bases de Heinz excepto por el SNP (j), por ejemplo, y la base subrayada entre corchetes es un polimorfismo correspondiente al SNP (j). Es decir, por ejemplo, una planta de tomate es resistente a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es T, y es susceptible a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es distinta de T (por ejemplo, A). Por lo tanto, la localización del SNP (j) se puede identificar en base a información sobre la secuencia de bases conocida de Heinz, por ejemplo.

SEQ ID NO: 4

5'-CGAAATGCTCTTTTTTTCCTTTACACCATGTGACTGATTATAGTCTTACT
T[T]AATGAATAAGCAACTGAATACAAAAATTATCACCTCTATATAGATACA
GT-3'

El solcap_snp_sl_21385 (también denominado "SNP (k)" de aquí en adelante en la presente memoria) es un polimorfismo tal que la base subrayada entre corchetes en la SEQ ID NO: 16 es T, por ejemplo. Es decir, por ejemplo, una planta de tomate es resistente a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es T, y es susceptible a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es distinta de T (por ejemplo, C). La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 16 se puede obtener de la planta de tomate depositada con el No. de Acceso FERM BP-22251 que se describirá a continuación, por ejemplo.

SEQ ID NO: 16

5'-AGAATCCTACGCCTGTAAATCTATCGACAAAAACCT[T]CTCATTGATTC
CACCGACCGTGAGTGTCTCGATAAAGAACCC-3'

5 El SNP (k) se puede identificar en base a información conocida en la base de datos del sitio web descrito anteriormente, etc., por ejemplo. La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 5 es idéntica a la secuencia de bases de Heinz excepto por el SNP (k), por ejemplo, y la base subrayada entre corchetes es un polimorfismo correspondiente al SNP (k). Es decir, por ejemplo, una planta de tomate es resistente a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es T, y es susceptible a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es distinta de T (por ejemplo, C). Por lo tanto, la localización del SNP (k) se puede identificar en base a información sobre la secuencia de bases conocida de Heinz, por ejemplo.

SEQ ID NO: 5

5'-TCTCCGGCGACCGGAGAATCCTACGCCTGTAAATCTATCGATAAAAAAC
CT[T]CTCATTGATTCCACCGACCGTGAGTGTCTCGATAAAGAACCCAAAA
TTCT-3'

10 El solcap_snp_sl_21390 (también denominado "SNP (l)" de aquí en adelante en la presente memoria) es un polimorfismo tal que la base subrayada entre corchetes en la SEQ ID NO: 20 es T, por ejemplo. Es decir, por ejemplo, una planta de tomate es resistente a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es T, y es susceptible a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es distinta de T (por ejemplo, C). La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 20 se puede obtener de la planta de tomate depositada con el No. de Acceso FERM BP-22251 que se describirá a continuación, por ejemplo.

SEQ ID NO: 20

5'-GCAATATTTGGTTCC[T]TTAATCCCTCTTGG-3'

20 El SNP (l) se puede identificar en base a información conocida en la base de datos del sitio web descrito anteriormente, etc., por ejemplo. La secuencia de bases de la SEQ ID NO: 6 es idéntica a la secuencia de bases de Heinz excepto por el SNP (l), por ejemplo, y la base subrayada entre corchetes es un polimorfismo correspondiente al SNP (l). Es decir, por ejemplo, una planta de tomate es resistente a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es T, y es susceptible a nematodos del nudo de la raíz cuando la base subrayada es distinta de T (por ejemplo, C). Por lo tanto, la localización del SNP (l) se puede identificar en base a información sobre la secuencia de bases conocida de Heinz, por ejemplo.

SEQ ID NO: 6

5'-AGTGGCTTTATGCTCTACTAGGGAGCACGGGCGCTGCAATATTTGGTT
CC[T]TTAATCCCTCTTGGCCTATGTCATTGCATTGATTGTAACAGCATAT
TAC-3'

25 Las localizaciones de los marcadores SNP en el cromosoma no están particularmente limitadas. Por ejemplo, como se muestra en la FIG. 2, en el cromosoma 4 de una planta de tomate, los marcadores SNP están localizados en el siguiente orden desde el lado en 5' (el lado solcap_snp_sl_21346) hacia el lado en 3' (el lado solcap_snp_sl_21390): solcap_snp_sl_21346, solcap_snp_sl_21364, TK43, YU06, YK66, TY38, AR02, HT12, solcap_snp_sl_64250, solcap_snp_sl_21383, solcap_snp_sl_21385 y solcap_snp_sl_21390.

30 El número de marcadores SNP presentes en el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz no está particularmente limitado. Por ejemplo, el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz puede incluir uno cualquiera de los marcadores SNP o dos o más de los marcadores SNP (es decir, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez u once seleccionados de los marcadores SNP o todos los doce marcadores SNP). La relevancia de estos doce tipos de polimorfismos (marcadores SNP) con la resistencia a nematodos del nudo de la raíz no ha sido reportada hasta ahora. Los marcadores TK43, YU06, YK66, TY38, AR02 y HT12 son polimorfismos nuevos. Todos los polimorfismos anteriores fueron descubiertos primero por los inventores de la presente invención como involucrados en la resistencia a nematodos del nudo de la raíz.

La combinación de los marcadores SNP no está particularmente limitada y algunos ejemplos de los mismos incluyen las siguientes combinaciones:

40 la combinación de solcap_snp_sl_21346 y solcap_snp_sl_21364;

la combinación de TK43 y YU06;

la combinación de YK66, TY38, AR02 y HT12;

la combinación de solcap_snp_sl_64250 y solcap_snp_sl_21383;

la combinación de solcap_snp_sl_21385 y solcap_snp_sl_21390;

5 la combinación de solcap_snp_sl_21346 y solcap_snp_sl_21390;

la combinación de solcap_snp_sl_21346, TY38 y solcap_snp_sl_21390;

la combinación de solcap_snp_sl_21364 y solcap_snp_sl_21385;

la combinación de solcap_snp_sl_21364, TY38 y solcap_snp_sl_21385;

la combinación de YU06 y solcap_snp_sl_64250; y

10 la combinación de YU06, TY38 y solcap_snp_sl_64250.

Entre las combinaciones anteriores, las siguientes combinaciones son preferibles, por ejemplo, porque muestran una mayor correlación con la resistencia a nematodos del nudo de la raíz:

la combinación de YK66, TY38, AR02 y HT12;

la combinación de solcap_snp_sl_21346, TY38 y solcap_snp_sl_21390;

15 la combinación de solcap_snp_sl_21364, TY38 y solcap_snp_sl_21385; y

la combinación de YU06, TY38 y solcap_snp_sl_64250.

(2) Identificación por secuencia de bases que incluye el marcador SNP

El locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz puede especificarse mediante una secuencia de bases que incluya el marcador SNP, como se describe en el ítem (2) anterior, por ejemplo. El locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz puede consistir en la secuencia de bases o puede incluir la secuencia de bases, por ejemplo.

20

La secuencia de bases que incluye el marcador SNP no está particularmente limitada, y los ejemplos de la misma incluyen los siguientes polinucleótidos (a) a (l). Los polinucleótidos (a) a (l) corresponden a secuencias de bases que incluyen los marcadores SNP, a saber, el SNP (a) al SNP (l), respectivamente.

El polinucleótido (a) es una secuencia de bases que incluye el SNP (a), es decir, solcap_snp_sl_21346, y los ejemplos de la misma incluyen los siguientes polinucleótidos (a1), (a2) y (a3). Los polinucleótidos (a2) y (a3) son polinucleótidos que tienen cada uno una función equivalente a la del polinucleótido (a1) con respecto a la resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz.

25

(a1) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 15

(a2) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases obtenida por delección, sustitución, inserción y/o adición de una o más bases excluyendo la base 21^a (G) en la secuencia de bases del polinucleótido (a1)

30

(a3) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos un 80 % de identidad con la secuencia de bases del polinucleótido (a1) conservándose la 21^a base (G) en la secuencia de bases del polinucleótido (a1).

En el polinucleótido (a1), la 21^a base (G) subrayada entre corchetes en la SEQ ID NO: 15 es una base que corresponde al polimorfismo solcap_snp_sl_21346. El polinucleótido (a1) se puede obtener a partir de la planta de tomate depositada con el No. de Acceso FERM BP-22251 que se describirá a continuación, por ejemplo.

35

En el polinucleótido (a2), el número de la una o más bases es, por ejemplo, de 1 a 8, preferiblemente de 1 a 6, más preferiblemente de 1 a 5, aún más preferiblemente de 1 a 3 y, de manera particularmente preferible, de 1 o 2. El rango numérico con respecto al número de bases divulga, por ejemplo, todos los números enteros positivos que caen dentro de ese rango. Es decir, por ejemplo, la descripción "una a cinco bases" divulga la totalidad de "una, dos, tres, cuatro y cinco bases" (lo mismo se aplica de aquí en adelante en la presente memoria).

40

En el polinucleótido (a3), la identidad es, por ejemplo, de al menos un 80 %, preferiblemente al menos un 85 %, más preferiblemente al menos un 89 %, aún más preferiblemente al menos un 90 %, particularmente preferiblemente al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 %. La identidad se puede determinar alineando dos secuencias de bases (lo mismo se aplica de aquí en adelante en la presente memoria).

45

El polinucleótido (a1) puede ser no sólo, por ejemplo, un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 15, sino que también puede ser, por ejemplo, un polinucleótido que incluye la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 15, es decir, un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 29. En la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 29, una secuencia indicada con letras mayúsculas corresponde a la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 15, y la 45ª base subrayada entre corchetes es una base que corresponde al polimorfismo descrito anteriormente. En el caso en que el polinucleótido (a1) sea un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 29, la frase "21ª base" en relación con los polinucleótidos (a2) y (a3) se sustituye por la "45ª base".

SEQ ID NO: 29

5'-tcttcaactccgacttctgtaataCCAGAATTTATCGTGGTGGGA[G]GTTCTTGGAAAC

TGCATGGAGGaagggttttaacccagttcaat-3'

El polinucleótido (b) es una secuencia de bases que incluye el SNP (b), es decir, solcap_snp_sl_21364, y los ejemplos de la misma incluyen los siguientes polinucleótidos (b1), (b2) y (b3). Los polinucleótidos (b2) y (b3) son polinucleótidos que tienen cada uno una función equivalente a la del polinucleótido (b1) con respecto a la resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz.

(b1) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 17

(b2) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases obtenida por delección, sustitución, inserción y/o adición de una o más bases excluyendo la 16ª base (T) en la secuencia de bases del polinucleótido (b1)

(b3) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos un 80 % de identidad con la secuencia de bases del polinucleótido (b1) conservándose la 16ª base (T) en la secuencia de bases del polinucleótido (b1).

En el polinucleótido (b1), la 16ª base subrayada (T) entre corchetes en la SEQ ID NO: 17 es una base que corresponde al polimorfismo del solcap_snp_sl_21364. El polinucleótido (b1) se puede obtener de la planta de tomate depositada con el No. de Acceso FERM BP-22251 que se describirá a continuación, por ejemplo.

En el polinucleótido (b2), el número de la una o más bases es, por ejemplo, de 1 a 6, preferiblemente de 1 a 5, más preferiblemente de 1 a 4, aún más preferiblemente de 1 a 3 y particularmente preferiblemente de 1 o 2.

En el polinucleótido (b3), la identidad es, por ejemplo, de al menos un 80 %, preferiblemente al menos un 85 %, más preferiblemente al menos un 89 %, aún más preferiblemente al menos un 90 %, particularmente preferiblemente al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 %.

El polinucleótido (b1) puede ser no sólo, por ejemplo, un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 17, sino que también puede ser, por ejemplo, un polinucleótido que incluye la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 17, es decir, un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 31. En la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 31, una secuencia indicada con letras mayúsculas corresponde a la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 17, y la 48ª base subrayada entre corchetes es una base que corresponde al polimorfismo descrito anteriormente. En el caso en que el polinucleótido (b1) sea un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 31, la frase "16ª base" en relación con los polinucleótidos (b2) y (b3) se sustituye por la "48ª base".

SEQ ID NO: 31

5'-tgaagaagcttgatcgagttggtgccgccttGTTAGTAGCAATTCA[T]GATGATCGAT

GGATCaatcaatcaatcaactatg-3'

El polinucleótido (c) es una secuencia de bases que incluye el SNP (c), es decir, TK43, y los ejemplos de la misma incluyen los siguientes polinucleótidos (c1), (c2) y (c3). Los polinucleótidos (c2) y (c3) son polinucleótidos que tienen cada uno una función equivalente a la del polinucleótido (c1) con respecto a la resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz.

(c1) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 18

(c2) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases obtenida por delección, sustitución, inserción y/o adición de una o más bases excluyendo la 16ª base (T) y la 17ª base (A) en la secuencia de bases del polinucleótido (c1)

(c3) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos un 80 % de identidad con la secuencia de bases del polinucleótido (c1) conservándose la 16ª base (T) y la 17ª base (A) en la secuencia de bases del polinucleótido (c1).

En el polinucleótido (c1), la 16ª base (T) y la 17ª base (A) subrayadas entre corchetes en la SEQ ID NO: 18 son bases correspondientes a los polimorfismos de TK43. Asimismo, el polinucleótido (c1) puede obtenerse a partir de la planta de tomate depositada con el No. de Acceso FERM BP-22251 que se describirá a continuación, por ejemplo.

En el polinucleótido (c2), el número de la una o más bases es, por ejemplo, de 1 a 6, preferiblemente de 1 a 5, más preferiblemente de 1 a 4, aún más preferiblemente de 1 a 3 y particularmente preferiblemente de 1 o 2.

En el polinucleótido (c3), la identidad es, por ejemplo, de al menos un 80 %, preferiblemente al menos un 85 %, más preferiblemente al menos un 89 %, aún más preferiblemente al menos un 90 %, particularmente preferiblemente al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 %.

El polinucleótido (c1) puede ser no sólo, por ejemplo, un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 18, sino también puede ser, por ejemplo, un polinucleótido que incluye la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 18, es decir, un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 32. En la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 32, una secuencia indicada con letras mayúsculas corresponde a la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 18, y las 50ª y 51ª bases subrayadas entre corchetes son bases correspondientes a los polimorfismos descritos anteriormente. En el caso en que el polinucleótido (c1) sea un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 32, la frase "16ª y 17ª bases" en relación con los polinucleótidos (c2) y (c3) se sustituye por "50ª y 51ª bases".

SEQ ID NO: 32

5'-aatgggaacaagggactgacatcaggagcttccaAAGAAGGTGAATATT[TA]ACTGTAT

GATCCCCAtcaggccttcaaagacattgctaaaa-3'

El polinucleótido (d) es una secuencia de bases que incluye el SNP (d), es decir, YU06, y los ejemplos de la misma incluyen los siguientes polinucleótidos (d1), (d2) y (d3). Los polinucleótidos (d2) y (d3) son polinucleótidos que tienen cada uno una función equivalente a la del polinucleótido (d1) con respecto a la resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz.

(d1) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 19

(d2) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases obtenida por delección, sustitución, inserción y/o adición de una o más bases excluyendo la 55ª base (C) en la secuencia de bases del polinucleótido (d1)

(d3) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos un 80 % de identidad con la secuencia de bases del polinucleótido (d1) conservándose la 55ª base (C) en la secuencia de bases del polinucleótido (d1).

En el polinucleótido (d1), la 55ª base subrayada (C) entre corchetes en la SEQ ID NO: 19 es una base que corresponde al polimorfismo de YU06. El polinucleótido (d1) se puede obtener de la planta de tomate depositada con el No. de Acceso FERM BP-22251 que se describirá a continuación, por ejemplo.

En el polinucleótido (d2), el número de la una o más bases es, por ejemplo, de 1 a 24, preferiblemente de 1 a 18, más preferiblemente de 1 a 13, aún más preferiblemente de 1 a 12, de 1 a 6 y particularmente preferiblemente de 1, 2 o 3.

En el polinucleótido (d3), la identidad es, por ejemplo, de al menos un 80 %, preferiblemente al menos un 85 %, más preferiblemente al menos un 89 %, aún más preferiblemente al menos un 90 %, particularmente preferiblemente al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 %.

El polinucleótido (e) es una secuencia de bases que incluye el SNP (e), es decir, YK66, y los ejemplos de la misma incluyen los siguientes polinucleótidos (e1), (e2) y (e3). Los polinucleótidos (e2) y (e3) son polinucleótidos que tienen cada uno una función equivalente a la del polinucleótido (e1) con respecto a la resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz.

(e1) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 21

(e2) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases obtenida por delección, sustitución, inserción y/o adición de una o más bases excluyendo la 16ª base (C) en la secuencia de bases del polinucleótido (e1)

(e3) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos un 80 % de identidad con la secuencia de bases del polinucleótido (e1) conservándose la 16ª base (C) en la secuencia de bases del polinucleótido (e1).

En el polinucleótido (e1), la 16ª base (C) subrayada entre corchetes en la SEQ ID NO: 21 es una base correspondiente al polimorfismo de YK66. Asimismo, el polinucleótido (e1) puede obtenerse a partir de la planta de tomate depositada con el No. de Acceso FERM BP-22251 que se describirá a continuación, por ejemplo.

En el polinucleótido (e2), el número de la una o más bases es, por ejemplo, de 1 a 6, preferiblemente de 1 a 5, más preferiblemente de 1 a 4, aún más preferiblemente de 1 a 3 y particularmente preferiblemente de 1 o 2.

En el polinucleótido (e3), la identidad es, por ejemplo, de al menos un 80 %, preferiblemente al menos un 85 %, más

preferiblemente al menos un 89 %, aún más preferiblemente al menos un 90 %, particularmente preferiblemente al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 %.

El polinucleótido (e1) no sólo puede ser, por ejemplo, un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 21, sino también puede ser, por ejemplo, un polinucleótido que incluye la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 21, es decir, un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 34. En la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 34, una secuencia indicada con letras mayúsculas corresponde a la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 21, y la 60ª base subrayada entre corchetes es una base que corresponde al polimorfismo descrito anteriormente. En el caso en que el polinucleótido (e1) sea un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 34, la frase "16ª base" en relación con los polinucleótidos (e2) y (e3) se sustituye por la "60ª base".

SEQ ID NO: 34

5'-ttttattcatgaacaaaaaacagtgagaaaaatgtgtcatacgaCTCAAACCTCATTTCAG[C]C

AAAGACGTCTATCAatattgtccagttattaataataacttttt-3'

El polinucleótido (f) es una secuencia de bases que incluye el SNP (f), es decir, TY38, y los ejemplos de la misma incluyen los siguientes polinucleótidos (f1), (f2) y (f3). Los polinucleótidos (f2) y (f3) son polinucleótidos que tienen cada uno una función equivalente a la del polinucleótido (f1) con respecto a la resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz.

(f1) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 22

(f2) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases obtenida por delección, sustitución, inserción y/o adición de una o más bases excluyendo la 21ª base (A) en la secuencia de bases del polinucleótido (f1)

(f3) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos un 80 % de identidad con la secuencia de bases del polinucleótido (f1) conservándose la 21ª base (A) en la secuencia de bases del polinucleótido (f1).

En el polinucleótido (f1), la 21ª base (A) subrayada entre corchetes en la SEQ ID NO: 22 es una base que corresponde al polimorfismo de TY38. El polinucleótido (f1) se puede obtener de la planta de tomate depositada con el No. de Acceso FERM BP-22251 que se describirá a continuación, por ejemplo.

En el polinucleótido (f2), el número de la una o más bases es, por ejemplo, de 1 a 8, preferiblemente de 1 a 6, más preferiblemente de 1 a 5, aún más preferiblemente de 1 a 4, de 1 a 3 y particularmente preferiblemente de 1 o 2.

En el polinucleótido (f3), la identidad es, por ejemplo, de al menos un 80 %, preferiblemente al menos un 85 %, más preferiblemente al menos un 89 %, aún más preferiblemente al menos un 90 %, particularmente preferiblemente al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 %.

El polinucleótido (f1) puede ser no sólo, por ejemplo, un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 22, sino también puede ser, por ejemplo, un polinucleótido que incluye la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 22, es decir, un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 25. En la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 25, una secuencia indicada con letras mayúsculas corresponde a la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 22, y la 34ª base subrayada entre corchetes es una base que corresponde al polimorfismo descrito anteriormente. En el caso en que el polinucleótido (f1) sea un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 25, la frase "21ª base" en relación con los polinucleótidos (f2) y (f3) se sustituye por la "34ª base".

SEQ ID NO: 25

5'-aatctccttattcCTAGACAACCTCTTCTATTAG[A]ACACCATAAACAGAAATGT

Ccagcacaaaacccaattttcttattttatc-3'

El polinucleótido (g) es una secuencia de bases que incluye el SNP (g), es decir, AR02, y los ejemplos de la misma incluyen los siguientes polinucleótidos (g1), (g2) y (g3). Los polinucleótidos (g2) y (g3) son polinucleótidos que tienen cada uno una función equivalente a la del polinucleótido (g1) con respecto a la resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz.

(g1) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 23

(g2) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases obtenida por delección, sustitución, inserción y/o adición de una o más bases excluyendo la 16ª base (G) en la secuencia de bases del polinucleótido (g1)

(g3) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos un 80 % de identidad con la secuencia de bases del polinucleótido (g1) conservándose la 16ª base (G) en la secuencia de bases del polinucleótido (g1).

En el polinucleótido (g1), la 16ª base (G) subrayada entre corchetes en la SEQ ID NO: 23 es una base que corresponde al polimorfismo de AR02. Asimismo, el polinucleótido (g1) puede obtenerse a partir de la planta de tomate depositada con el No. de Acceso FERM BP-22251 que se describirá a continuación, por ejemplo.

5 En el polinucleótido (g2), el número de la una o más bases es, por ejemplo, de 1 a 6, preferiblemente de 1 a 5, más preferiblemente de 1 a 4, aún más preferiblemente de 1 a 3 y particularmente preferiblemente de 1 o 2.

En el polinucleótido (g3), la identidad es, por ejemplo, de al menos un 80 %, preferiblemente al menos un 85 %, más preferiblemente al menos un 89 %, aún más preferiblemente al menos un 90 %, particularmente preferiblemente al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 %.

10 El polinucleótido (g1) puede ser no sólo, por ejemplo, un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 23, sino también puede ser, por ejemplo, un polinucleótido que incluye la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 23, es decir, un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 26. En la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 26, una secuencia indicada con letras mayúsculas corresponde a la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 23, y la 69ª base subrayada entre corchetes es una base que corresponde al polimorfismo descrito anteriormente. Cuando el polinucleótido (g1) es un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 26, la frase "16ª base" en relación con los polinucleótidos (g2) y (g3) se sustituye por la "69ª base".

SEQ ID NO: 26

5'-gctattgtattgaacgtgtgcaatgacttttgcattcaggtcctggaacttggGGCATTGACAGTG
CT[G]ATGAAGATGATGAAAtctcacaccacagaagaagctgtaaaagcattatttgcatttcag
cactaataaga-3'

20 El polinucleótido (h) es una secuencia de bases que incluye el SNP (h), es decir, HT12, y los ejemplos de la misma incluyen los siguientes polinucleótidos (h1), (h2) y (h3). Los polinucleótidos (h2) y (h3) son polinucleótidos que tienen cada uno una función equivalente a la del polinucleótido (h1) con respecto a la resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz.

(h1) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 24

(h2) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases obtenida por delección, sustitución, inserción y/o adición de una o más bases excluyendo la 26ª base (C) en la secuencia de bases del polinucleótido (h1)

25 (h3) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos un 80 % de identidad con la secuencia de bases del polinucleótido (h1) conservándose la 26ª base (C) en la secuencia de bases del polinucleótido (h1).

En el polinucleótido (h1), la 26ª base (C) subrayada entre corchetes en la SEQ ID NO: 24 es una base que corresponde al polimorfismo de HT12. El polinucleótido (h1) se puede obtener de la planta de tomate depositada con el No. de Acceso FERM BP-22251 que se describirá a continuación, por ejemplo.

30 En el polinucleótido (h2), el número de la una o más bases es, por ejemplo, de 1 a 10, preferiblemente de 1 a 8, más preferiblemente de 1 a 6, aún más preferiblemente de 1 a 5, de 1 a 3 y particularmente preferiblemente de 1 o 2.

En el polinucleótido (h3), la identidad es, por ejemplo, de al menos un 80 %, preferiblemente al menos un 85 %, más preferiblemente al menos un 89 %, aún más preferiblemente al menos un 90 %, particularmente preferiblemente al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 %.

35 El polinucleótido (h1) puede ser no sólo, por ejemplo, un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 24, sino también puede ser, por ejemplo, un polinucleótido que incluye la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 24, es decir, un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 27. En la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 27, una secuencia indicada con letras mayúsculas corresponde a la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 24, y la 50ª base subrayada entre corchetes es una base que corresponde al polimorfismo descrito anteriormente. En el caso en que el polinucleótido (h1) sea un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 27, la frase "26ª base" en relación con los polinucleótidos (h2) y (h3) se sustituye por la "50ª base".

SEQ ID NO: 27

5'-agaaggcacttgtgttctatgccgGAAAAGCACCTAGAGGAATAAAAAC[C]AATTG
GATTATGCACGAGTACCGCC-3'

45 El polinucleótido (i) es una secuencia de bases que incluye el SNP (i), es decir, solcap_snp_sl_64250, y los ejemplos de la misma incluyen los siguientes polinucleótidos (i1), (i2) e (i3). Los polinucleótidos (i2) e (i3) son polinucleótidos que tienen cada uno una función equivalente a la del polinucleótido (i1) con respecto a la resistencia a nematodos del

nudo de la raíz en el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz.

(i1) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 13

(i2) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases obtenida por delección, sustitución, inserción y/o adición de una o más bases excluyendo la 16ª base (G) en la secuencia de bases del polinucleótido (i1)

- 5 (i3) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos un 80 % de identidad con la secuencia de bases del polinucleótido (i1) conservándose la 16ª base (G) en la secuencia de bases del polinucleótido (i1).

En el polinucleótido (i1), la 16ª base subrayada (G) entre corchetes en la SEQ ID NO: 13 es una base correspondiente al polimorfismo solcap_snp_sl_64250. El polinucleótido (i1) se puede obtener de la planta de tomate depositada con el No. de Acceso FERM BP-22251 que se describirá a continuación, por ejemplo.

- 10 En el polinucleótido (i2), el número de la una o más bases es, por ejemplo, de 1 a 6, preferiblemente de 1 a 5, más preferiblemente de 1 a 4, aún más preferiblemente de 1 a 3 y particularmente preferiblemente de 1 o 2.

En el polinucleótido (i3), la identidad es, por ejemplo, de al menos un 80 %, preferiblemente al menos un 85 %, más preferiblemente al menos un 89 %, aún más preferiblemente al menos un 90 %, particularmente preferiblemente al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 %.

- 15 El polinucleótido (i1) puede ser no sólo, por ejemplo, un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 13, sino también puede ser, por ejemplo, un polinucleótido que incluye la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 13, es decir, un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 28. En la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 28, una secuencia indicada con letras mayúsculas corresponde a la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 13, y la 25ª base subrayada entre corchetes es una base que corresponde al polimorfismo descrito anteriormente. En el caso en que el polinucleótido (i1) sea un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 28, la frase "16ª base" en relación con los polinucleótidos (i2) e (i3) se sustituye por la "25ª base".
- 20

SEQ ID NO: 28

5'-acagaggagAGGGTTTGAAGACGA[G]GCAAGAATCTGGCATtttatgcaacaaa
aaccttta-3'

- 25 El polinucleótido (j) es una secuencia de bases que incluye el SNP (j), es decir, solcap_snp_sl_21383, y los ejemplos de la misma incluyen los siguientes polinucleótidos (j1), (j2) y (j3). Los polinucleótidos (j2) y (j3) son polinucleótidos que tienen cada uno una función equivalente a la del polinucleótido (j1) con respecto a la resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz.

(j1) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 14

(j2) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases obtenida por delección, sustitución, inserción y/o adición de una o más bases excluyendo la 16ª base (T) en la secuencia de bases del polinucleótido (j1)

- 30 (j3) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos un 80 % de identidad con la secuencia de bases del polinucleótido (j1) conservándose la 16ª base (T) en la secuencia de bases del polinucleótido (j1).

En el polinucleótido (j1), la 16ª base (T) subrayada entre corchetes en la SEQ ID NO: 14 es una base que corresponde al polimorfismo solcap_snp_sl_21383. El polinucleótido (j1) se puede obtener de la planta de tomate depositada con el No. de Acceso FERM BP-22251 que se describirá a continuación, por ejemplo.

- 35 En el polinucleótido (j2), el número de la una o más bases es, por ejemplo, de 1 a 6, preferiblemente de 1 a 5, más preferiblemente de 1 a 4, aún más preferiblemente de 1 a 3 y particularmente preferiblemente de 1 o 2.

En el polinucleótido (j3), la identidad es, por ejemplo, de al menos un 80 %, preferiblemente al menos un 85 %, más preferiblemente al menos un 89 %, aún más preferiblemente al menos un 90 %, particularmente preferiblemente al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 %.

- 40 El polinucleótido (j1) no sólo puede ser, por ejemplo, un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 14, sino también puede ser, por ejemplo, un polinucleótido que incluye la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 14, es decir, un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 33. En la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 33, una secuencia indicada con letras mayúsculas corresponde a la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 14, y la 35ª base subrayada entre corchetes es una base que corresponde al polimorfismo descrito anteriormente. Cuando el polinucleótido (j1) es un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 33, la frase "16ª base" en relación con los polinucleótidos (j2) y (j3) se sustituye por la "35ª base".
- 45

SEQ ID NO: 33

5'-cctttacaccatgtgactgATTATAGTCTTACTT[T]AATGAATAAGCAACTgaataca
aaaa-3'

El polinucleótido (k) es una secuencia de bases que incluye el SNP (k), es decir, solcap_snp_sl_21385, y los ejemplos de la misma incluyen los siguientes polinucleótidos (k1), (k2) y (k3). Los polinucleótidos (k2) y (k3) son polinucleótidos que tienen cada uno una función equivalente a la del polinucleótido (k1) con respecto a la resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz.

(k1) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 16

(k2) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases obtenida por delección, sustitución, inserción y/o adición de una o más bases excluyendo la 37ª base (T) en la secuencia de bases del polinucleótido (k1)

(k3) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos un 80 % de identidad con la secuencia de bases del polinucleótido (k1) conservándose la 37ª base (T) en la secuencia de bases del polinucleótido (k1).

En el polinucleótido (k1), la 37ª base (T) subrayada entre corchetes en la SEQ ID NO: 16 es una base que corresponde al polimorfismo de solcap_snp_sl_21385. El polinucleótido (k1) se puede obtener de la planta de tomate depositada con el No. de Acceso FERM BP-22251 que se describirá a continuación, por ejemplo.

En el polinucleótido (k2), el número de la una o más bases es, por ejemplo, de 1 a 16, preferiblemente de 1 a 12, más preferiblemente de 1 a 9, aún más preferiblemente de 1 a 8, de 1 a 4 y particularmente preferiblemente de 1, 2 o 3.

En el polinucleótido (k3), la identidad es, por ejemplo, de al menos un 80 %, preferiblemente al menos un 85 %, más preferiblemente al menos un 89 %, aún más preferiblemente al menos un 90 %, particularmente preferiblemente al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 %.

El polinucleótido (l) es una secuencia de bases que incluye el SNP (l), es decir, solcap_snp_sl_21390, y los ejemplos de la misma incluyen los siguientes polinucleótidos (l1), (l2) y (l3). Los polinucleótidos (l2) y (l3) son polinucleótidos que tienen cada uno una función equivalente a la del polinucleótido (l1) con respecto a la resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz.

(l1) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 20

(l2) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases obtenida por delección, sustitución, inserción y/o adición de una o más bases excluyendo la 16ª base (T) en la secuencia de bases del polinucleótido (l1)

(l3) un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases que tiene al menos un 80 % de identidad con la secuencia de bases del polinucleótido (l1) conservándose la 16ª base (T) en la secuencia de bases del polinucleótido (l1).

En el polinucleótido (l1), la 16ª base (T) subrayada entre corchetes en la SEQ ID NO: 20 es una base que corresponde al polimorfismo solcap_snp_sl_21390. El polinucleótido (l1) se puede obtener a partir de la planta de tomate depositada con el No. de Acceso FERM BP-22251 que se describirá a continuación, por ejemplo.

En el polinucleótido (l2), el número de la una o más bases es, por ejemplo, de 1 a 6, preferiblemente de 1 a 5, más preferiblemente de 1 a 4, aún más preferiblemente de 1 a 3 y particularmente preferiblemente de 1 o 2.

En el polinucleótido (l3), la identidad es, por ejemplo, de al menos un 80 %, preferiblemente al menos un 85 %, más preferiblemente al menos un 89 %, aún más preferiblemente al menos un 90 %, particularmente preferiblemente al menos un 95 %, al menos un 96 %, al menos un 97 %, al menos un 98 %, o al menos un 99 %.

El polinucleótido (l1) puede ser no sólo, por ejemplo, un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 20, sino también puede ser, por ejemplo, un polinucleótido que incluye la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 20, es decir, un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 30. En la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 30, una secuencia indicada con letras mayúsculas corresponde a la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 20, y la 21ª base subrayada entre corchetes es una base que corresponde al polimorfismo descrito anteriormente. En el caso en que el polinucleótido (l1) sea un polinucleótido que consiste en la secuencia de bases de la SEQ ID NO: 30, la frase "16ª base" en relación con los polinucleótidos (l2) y (l3) se sustituye por la "21ª base".

SEQ ID NO: 30

5'-gCGcTGAATATTTGGTTCC[T]TTAATCCCCTCTTGcctatgtcattgcattgattgt
aa-3'

El número de secuencias de bases que incluyen los marcadores SNP en el locus de resistencia a nematodos del nudo

de la raíz no está particularmente limitado. Por ejemplo, el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz puede incluir uno cualquiera de los polinucleótidos (a) a (l) o dos o más de los polinucleótidos (a) a (l) (es decir, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez u once seleccionados de los polinucleótidos (a) a (l) o todos los doce polinucleótidos (a) a (l)).

- 5 La combinación de las secuencias de bases que incluyen los marcadores SNP no está particularmente limitada, y algunos ejemplos de las mismas incluyen las siguientes combinaciones:

la combinación de los polinucleótidos (a) y (b);

la combinación de los polinucleótidos (c) y (d);

la combinación de los polinucleótidos (i) y (j);

- 10 la combinación de los polinucleótidos (k) y (l);

la combinación de los polinucleótidos (e) a (h);

la combinación de los polinucleótidos (a) y (l);

la combinación de los polinucleótidos (a), (f) y (l);

la combinación de los polinucleótidos (b) y (k);

- 15 la combinación de los polinucleótidos (b), (f) y (k);

la combinación de los polinucleótidos (d) e (i); y

la combinación de los polinucleótidos (d), (f) e (i).

Entre las combinaciones anteriores, las siguientes combinaciones son preferibles, por ejemplo, porque muestran una mayor correlación con la resistencia a nematodos del nudo de la raíz:

- 20 la combinación de los polinucleótidos (e) a (h);

la combinación de los polinucleótidos (a), (f) y (l);

la combinación de los polinucleótidos (b), (f) y (k); y

la combinación de los polinucleótidos (d), (f) e (i).

(3) Identificación por secuencia de bases en la región entre los sitios de dos marcadores SNP

- 25 El locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz puede especificarse por la secuencia de bases en una región entre los sitios de dos marcadores SNP, como se describe en el ítem (3), por ejemplo. La secuencia de bases en una región entre los sitios de los dos marcadores SNP no está particularmente limitada, y los ejemplos de la misma incluyen una secuencia de bases en una región entre los sitios de dos marcadores SNP seleccionados del grupo que consiste en solcap_snp_sl_21346, solcap_snp_sl_21364, TK43, YU06, YK66, TY38, AR02, HT12, solcap_snp_sl_64250, solcap_snp_sl_21383, solcap_snp_sl_21385 y solcap_snp_sl_21390 en el cromosoma.

- 30 El extremo del lado en 5' y el extremo del lado en 3' de la región se pueden identificar, por ejemplo, mediante los sitios de los dos marcadores SNP, como se describió anteriormente. La región no está limitada siempre que se extienda entre los sitios de los dos marcadores SNP, por ejemplo. La región puede o no incluir ambos o uno de los sitios de los dos marcadores SNP, por ejemplo. Cuando la región incluye los sitios de los marcadores SNP, el extremo del lado en 5' y el extremo del lado en 3' de la región son los sitios de los marcadores SNP. Las bases en el extremo del lado en 5' y el extremo del lado en 3' pueden ser cada una la base subrayada descrita anteriormente en la secuencia de bases o pueden ser una base distinta de la base subrayada, por ejemplo.

Los dos marcadores SNP que especifican la región no están particularmente limitados y algunos ejemplos de los mismos incluyen las siguientes combinaciones:

- 40 la combinación de solcap_snp_sl_21346 y TK43;

la combinación de solcap_snp_sl_21364 e YK66;

la combinación de YU06 y solcap_snp_sl_64250;

la combinación de HT12 y solcap_snp_sl_21385;

la combinación de solcap_snp_sl_21383 y solcap_snp_sl_21390;

la combinación de solcap_snp_sl_21346 y solcap_snp_sl_21390; y

la combinación de solcap_snp_sl_21364 y solcap_snp_sl_21385.

Entre las combinaciones anteriores, las siguientes combinaciones son preferibles, por ejemplo, porque muestran una mayor correlación con la resistencia a nematodos del nudo de la raíz:

- 5 la combinación de YU06 y solcap_snp_sl_64250.

En el caso en donde el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz se especifica mediante la secuencia de bases en una región entre los sitios de los dos marcadores SNP, es preferible que, en el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz, la secuencia de bases en la región incluya el o los marcadores SNP localizados en la región. Específicamente, es preferible que, en el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz, la secuencia de bases en la región incluya al menos un marcador SNP seleccionado del grupo que consiste en solcap_snp_sl_21346, solcap_snp_sl_21364, TK43, YU06, YK66, TY38, AR02, HT12, solcap_snp_sl_64250, solcap_snp_sl_21383, solcap_snp_sl_21385 y solcap_snp_sl_21390, por ejemplo.

- 10 El o los marcadores SNP localizados en la región pueden ser, por ejemplo, uno o ambos de los sitios de los dos marcadores SNP que especifican la región en el cromosoma, o pueden ser el o los marcadores SNP localizados entre los sitios de los dos marcadores SNP que especifican la región. El primero también se conoce como un marcador SNP en el extremo de la región, y el último también se conoce como un marcador SNP dentro de la región. Los marcadores SNP localizados en la región pueden ser tanto los marcadores SNP en los extremos de la región como el marcador SNP dentro de la región, por ejemplo.

- 15 El o los marcadores SNP dentro de la región pueden ser, por ejemplo, un o más marcadores SNP localizados entre el marcador SNP en el lado en 5' y el marcador SNP en el lado en 3' que especifica la región, y pueden determinarse según corresponda sobre la base de las localizaciones de los marcadores SNP que se muestran en la FIG. 2, por ejemplo. El número de marcadores SNP entre los sitios de los dos marcadores SNP puede ser uno o más, por ejemplo. Específicamente, por ejemplo, los marcadores SNP pueden ser todos los marcadores SNP localizados entre los sitios de los marcadores SNP que especifican la región.

- 20 La combinación de la secuencia de bases en una región entre los sitios de los dos marcadores SNP y el o los marcadores SNP en la secuencia de bases en la región no está particularmente limitada, y los ejemplos de la misma incluyen las siguientes condiciones (i) a (v). Entre ellas, la condición (i) es preferible, porque muestra una mayor correlación con la resistencia a nematodos del nudo de la raíz.

Condición (i)

- 30 El locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz incluye una secuencia de bases en una región entre los sitios de YU06 y solcap_snp_sl_64250 en el cromosoma, y

la secuencia de bases en la región incluye al menos un marcador SNP seleccionado del grupo que consiste en YK66, TY38, AR02 y HT12.

Condición (ii)

- 35 El locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz incluye una secuencia de bases en una región entre los sitios de solcap_snp_sl_21364 e YK66 en el cromosoma, y

la secuencia de bases en la región incluye al menos uno de los marcadores SNP TK43 e YU06.

Condición (iii)

- 40 El locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz incluye una secuencia de bases en una región entre los sitios de HT12 y solcap_snp_sl_21385 en el cromosoma, y

la secuencia de bases en la región incluye al menos uno de los marcadores SNP solcap_snp_sl_64250 y solcap_snp_sl_21383.

Condición (iv)

- 45 El locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz incluye una secuencia de bases en una región entre los sitios de solcap_snp_sl_21346 y TK43 en el cromosoma, y

la secuencia de bases en la región incluye al menos uno de los marcadores SNP solcap_snp_sl_21346 y solcap_snp_sl_21364.

Condición (v)

El locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz incluye una secuencia de bases en una región entre los sitios

de solcap_snp_sl_21383 y solcap_snp_sl_21390 en el cromosoma, y

la de secuencia de bases en la región incluye al menos uno de los marcadores SNP solcap_snp_sl_21385 y solcap_snp_sl_21390.

- 5 En la condición (i), el número de marcadores SNP dentro de la región no está particularmente limitado. Por ejemplo, el o los marcadores SNP dentro de la región pueden ser uno cualquiera de YK66, TY38, AR02 y HT12, o pueden ser dos o más (es decir, dos, tres o cuatro) de YK66, TY38, AR02 y HT12. En el caso en donde el número de marcadores SNP sea dos o más, la combinación de los marcadores SNP no está particularmente limitada, y los ejemplos de la misma incluyen las siguientes combinaciones.

Combinación de dos marcadores SNP:

- 10 la combinación de YK66 y TY38;
la combinación de YK66 y AR02;
la combinación de YK66 y HT12;
la combinación de TY38 y AR02;
la combinación de TY38 y HT12; y
15 la combinación de AR02 y HT12.

Combinación de tres marcadores SNP:

- la combinación de YK66, TY38 y AR02;
la combinación de YK66, TY38 y HT12;
la combinación de YK66, AR02 y HT12; y
20 la combinación de TY38, AR02 y HT12.

Combinación de cuatro marcadores SNP:

- la combinación de YK66, TY38, AR02 y HT12.

En la condición (ii), el número de marcadores SNP dentro de la región no está particularmente limitado. Por ejemplo, la región puede incluir uno o ambos de TK43 e YU06.

- 25 En la condición (iii), el número de marcadores SNP dentro de la región no está particularmente limitado. Por ejemplo, la región puede incluir uno o ambos de solcap_snp_sl_64250 y solcap_snp_sl_21383.

En la condición (iv), el número de marcadores SNP dentro de la región no está particularmente limitado. Por ejemplo, la región puede incluir uno o ambos de solcap_snp_sl_21346 y solcap_snp_sl_21364.

- 30 En la condición (v), el número de marcadores SNP dentro de la región no está particularmente limitado. Por ejemplo, la región puede incluir uno o ambos de solcap_snp_sl_21385 y solcap_snp_sl_21390.

Por ejemplo, cuando la combinación de la secuencia de bases en una región entre los sitios de los dos marcadores SNP y el o los marcadores SNP en la secuencia de bases en la región es como se especifica en la condición (i), el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz puede satisfacer además al menos una condición seleccionada del grupo que consiste en (ii) a (v). Los ejemplos de la combinación de las condiciones incluyen las siguientes combinaciones.

- 35 Dos condiciones:

- la combinación de la condición (i) y una cualquiera de las condiciones (ii) a (v).

Tres condiciones:

- la combinación de la condición (i), la condición (ii) y una cualquiera de las condiciones (iii) a (v);
la combinación de la condición (i), la condición (iii) y una cualquiera de la condición (iv) y la condición (v); y
40 la combinación de la condición (i), la condición (iv) y la condición (v)

Cuatro condiciones:

- la combinación de la condición (i), la condición (ii), la condición (iii) y una cualquiera de la condición (iv) y la condición (v);

y

la combinación de la condición (i), la condición (iv), la condición (v), y una cualquiera de la condición (ii) y la condición (iii).

Cinco condiciones:

la combinación de la condición (i), la condición (ii), la condición (iii), la condición (iv) y la condición (v).

- 5 El marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz divulgado en la presente memoria puede conferir resistencia a nematodos del nudo de la raíz a las plantas de tomate, por ejemplo. En la presente divulgación, el grado de resistencia a nematodos del nudo de la raíz de una planta de tomate se puede expresar por la gravedad (la gravedad de las agallas de la raíz) según el método descrito en la siguiente bibliografía, por ejemplo. Con respecto al cálculo de la gravedad según este método, se puede hacer referencia a la explicación del Ejemplo 1 que se describirá a continuación, y la gravedad de las agallas de la raíz de 1 o menos se puede evaluar como resistente a nematodos del nudo de la raíz y la gravedad de las agallas de la raíz de 2 o más se puede evaluar como susceptible a nematodos del nudo de la raíz, por ejemplo.

Bibliografía: Satoshi AIBA et al., Sentyu-gaku Jikken-hou (Experimental Techniques in Nematology), (2004), p. 103 to 105

2. Planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz

- 15 Como se ha descrito anteriormente, la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz divulgada en la presente memoria incluye un locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el cromosoma 4. La planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz divulgada en la presente memoria se caracteriza porque incluye un locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el cromosoma 4, y otras configuraciones y condiciones no están particularmente limitadas. La planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz divulgada en la presente memoria incluye el marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz divulgado en la presente memoria, que incluye el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz. Por lo tanto, la descripción anterior con respecto al marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz para plantas de tomate divulgado en la presente memoria es aplicable a la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz divulgada en la presente memoria, por ejemplo. En la presente divulgación, el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el cromosoma 4 debe interpretarse como intercambiable con el marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz divulgado en la presente memoria, por ejemplo.

La planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz que se divulga en la presente memoria es resistente a nematodos del nudo de la raíz.

- 30 En la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz divulgada en la presente memoria, la resistencia a nematodos del nudo de la raíz se confiere mediante el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el cromosoma 4. Aunque la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz divulgada en la presente memoria tiene el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el cromosoma 4, puede tener el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el cromosoma 4, en lugar del cromosoma 4, en cualquier cromosoma distinto del cromosoma 4, por ejemplo. Es decir, la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz divulgada en la presente memoria puede tener el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el cromosoma 4 en, por ejemplo, cualquiera del cromosoma 1, cromosoma 2, cromosoma 3, cromosoma 5, cromosoma 6, cromosoma 7, cromosoma 8, cromosoma 9, cromosoma 10, cromosoma 11 y cromosoma 12.

- 40 En la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz divulgada en la presente memoria, la descripción relativa al locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz proporcionada anteriormente en relación con el marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz para plantas de tomate divulgado en la presente memoria es aplicable al locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz en la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz divulgada en la presente memoria, por ejemplo.

- 45 La resistencia a nematodos del nudo de la raíz de la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz divulgada en la presente memoria puede funcionar a temperaturas de crecimiento en el intervalo de 8 °C a 40 °C, por ejemplo. Es decir, la resistencia a nematodos del nudo de la raíz de la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz divulgada en la presente memoria puede funcionar incluso a temperaturas de crecimiento a las que la resistencia a nematodos del nudo de la raíz conferida por un gen de resistencia convencional como Mi-1 no puede funcionar, por ejemplo, 28 °C o más, específicamente de 30 °C a 35 °C.

- 50 La planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz divulgada en la presente memoria puede ser, por ejemplo, la planta de tomate depositada con el No. de Acceso FERM BP-22251 (*S. lycopersicum*) o una línea de progenie de la misma. La información sobre el depósito es la siguiente.

Tipo de depósito: Depósito internacional

Nombre de la institución depositaria: Instituto Nacional de Tecnología y

Evaluación; NITE-IPOD

Dirección: 2-5-8-120, Kazusakamatari, Kisarazu-shi, Chiba 292-0818, No. de Acceso de Japón FERM BP-22251

Denominación identificativa: Takii3

Fecha de aceptación: 8 de mayo de 2013

5 La planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz divulgada en la presente memoria se puede producir, por ejemplo, introduciendo el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz en una planta de tomate. El método para introducir el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz en una planta de tomate no está particularmente limitado, y se puede utilizar, por ejemplo, un procedimiento de ingeniería genética conocido convencionalmente. El locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz que se va a introducir puede ser el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz descrito anteriormente, por ejemplo.

10 Las características de la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz divulgadas en la presente memoria distintas de la resistencia a nematodos del nudo de la raíz, tales como, por ejemplo, características morfológicas y características biológicas, no están particularmente limitadas.

La planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz divulgada en la presente memoria también puede tener cualquier otra resistencia.

15 El término "cuerpo de la planta" tal como se utiliza en la presente memoria puede referirse a un individuo de la planta que representa la planta entera o a una parte del individuo de la planta. La parte del individuo de la planta puede ser cualquiera de los órganos, tejidos, células y propágulos, por ejemplo. Los ejemplos de los órganos incluyen pétalos, corolas, flores, hojas, semillas, frutos, tallos y raíces. El tejido es una parte del órgano, por ejemplo. La parte del cuerpo de la planta puede ser un tipo de órgano, tejido y/o célula, o dos o más tipos de órganos, tejidos y/o células, por ejemplo.

20 **3. Método para producir plantas de tomate resistentes a nematodos del nudo de la raíz**

A continuación, se describirá el método para producir una planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz divulgada en la presente memoria (también denominado simplemente "método de producción" de aquí en adelante en la presente memoria). Los métodos que se describirán a continuación son meramente ilustrativos. El método de producción también puede denominarse "método de cultivo", por ejemplo. Además, en la presente divulgación, el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz debe interpretarse como intercambiable con el marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz divulgado en la presente memoria.

Como se describió anteriormente, el método para producir una planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz incluye las siguientes etapas (a) y (b):

30 (a) cruzar la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz divulgada en la presente memoria con otra planta de tomate; y

(b) seleccionar una planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz de una o más plantas de tomate obtenidas en la etapa (a) o líneas de progenie de las mismas.

35 El método de producción se caracteriza porque la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz divulgada en la presente memoria se utiliza como progenitor, y otras etapas y condiciones no están limitados de ninguna manera. La descripción anterior con respecto a la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz, etc., es aplicable al método de producción, por ejemplo.

40 En la etapa (a), una planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz utilizada como primer progenitor no está limitada siempre que sea la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz divulgada en la presente memoria. La planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz es preferiblemente la planta de tomate descrita anteriormente depositada con el No. de Acceso FERM BP-22251 o una línea de progenie de la misma, por ejemplo. En la etapa (a), la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz utilizada como primer progenitor también puede obtenerse mediante el método de cribado descrito a continuación, por ejemplo. Por lo tanto, es posible proporcionar la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz, por ejemplo, seleccionándola de una o más plantas de tomate que se van a examinar (también denominadas "plantas de tomate candidatas")

45 mediante la siguiente etapa (x) antes de la etapa (a), por ejemplo:

(x) seleccionar la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz de una o más plantas de tomate que se van a examinar.

50 En la etapa (x), la selección de la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz puede denominarse selección de la planta de tomate que incluye un locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz. Por lo tanto, la etapa (x) puede llevarse a cabo mediante las siguientes etapas (x1) y (x2), por ejemplo.

(x1) detectar la presencia o ausencia del locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz en un cromosoma de cada una de las una o más plantas de tomate que se examinarán; y

(x2) seleccionar una o más plantas de tomate para ser examinadas que tengan el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz como una planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz.

Como se ha descrito anteriormente, la selección en la etapa (x) es la selección de la planta de tomate que incluye un locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz, por ejemplo. Específicamente, la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz puede seleccionarse llevando a cabo la detección del locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz con respecto a la una o más plantas de tomate que se van a examinar. Como se ha descrito anteriormente en relación con el marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz, el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz puede detectarse utilizando, por ejemplo, cualquiera de los siguientes (1) a (3) que especifican el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz o cualquier combinación de los mismos: (1) el marcador SNP; (2) una secuencia de bases que incluye el marcador SNP; y (3) una secuencia de bases en una región entre los sitios de dos marcadores SNP.

La selección en la etapa (x) se describirá con referencia al siguiente ejemplo específico. La descripción en relación al locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz proporcionada anteriormente en relación con el marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz es aplicable al locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el método de producción.

(1) Identificación por marcador SNP

La selección en la etapa (x) es, por ejemplo, la selección de una planta de tomate que incluye un locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz identificado por al menos un marcador SNP seleccionado del grupo que consiste en solcap_snp_sl_21346, solcap_snp_sl_21364, TK43, YU06, YK66, TY38, AR02, HT12, solcap_snp_sl_64250, solcap_snp_sl_21383, solcap_snp_sl_21385 y solcap_snp_sl_21390. El marcador SNP que se seleccionará no está particularmente limitado, y la explicación en la "(1) Identificación por marcador SNP" proporcionado anteriormente en relación con el marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz es aplicable, por ejemplo.

Como ejemplo específico, la selección en la etapa (x) puede ser la selección de una planta de tomate que incluye un locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz identificado por al menos un marcador SNP seleccionado del grupo que consiste en YK66, TY38, AR02 y HT12, por ejemplo.

(2) Identificación por secuencia de bases que incluye marcador SNP

La selección en la etapa (x) es, por ejemplo, la selección de una planta de tomate que incluye un locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz identificado por al menos un polinucleótido seleccionado del grupo que consiste en los polinucleótidos (a) a (l). Con respecto a los polinucleótidos (a) a (l), es aplicable, por ejemplo, la explicación en la "(2) Identificación por secuencia de bases que incluye marcador SNP" proporcionado anteriormente en relación con el marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz.

Como ejemplo específico, la selección en la etapa (x) puede ser la selección de una planta de tomate que incluye un locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz identificado por al menos un polinucleótido seleccionado del grupo que consiste en los polinucleótidos (e) a (h), por ejemplo.

(3) Identificación por secuencia de bases en la región entre los sitios de dos marcadores SNP

La selección en la etapa (x) es, por ejemplo, la selección de una planta de tomate que incluye un locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz que incluye una secuencia de bases en una región entre los sitios de dos marcadores SNP seleccionados del grupo que consiste en solcap_snp_sl_21346, solcap_snp_sl_21364, TK43, YU06, YK66, TY38, AR02, HT12, solcap_snp_sl_64250, solcap_snp_sl_21383, solcap_snp_sl_21385 y solcap_snp_sl_21390 en el cromosoma. Respecto de la secuencia de bases en una región entre los sitios de los dos marcadores SNP, es aplicable, por ejemplo, la explicación en la "(3) Identificación por secuencia de bases en una región entre los sitios de dos marcadores SNP" proporcionada anteriormente en relación con el marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz.

Como ejemplo específico, la selección en la etapa (x) es la selección de una planta de tomate que incluye un locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz en donde la secuencia de bases en la región incluye al menos un marcador SNP seleccionado del grupo que consiste en solcap_snp_sl_21346, solcap_snp_sl_21364, TK43, YU06, YK66, TY38, AR02, HT12, solcap_snp_sl_64250, solcap_snp_sl_21383, solcap_snp_sl_21385 y solcap_snp_sl_21390, por ejemplo.

Además, la selección en la etapa (x) puede ser la selección de una planta de tomate que incluya un locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz que satisfaga la condición (i), por ejemplo.

Además, la selección en la etapa (x) puede ser la selección de una planta de tomate que incluye un locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz que además satisface al menos una condición seleccionada del grupo que consiste en las condiciones (ii) a (v), por ejemplo.

El cromosoma que se someterá a la detección de la presencia o ausencia del locus de resistencia a nematodos del

nudo de la raíz es preferiblemente el cromosoma 4.

En la etapa (a), una planta de tomate que se utilizará como el otro progenitor no está particularmente limitada y puede ser, por ejemplo, una planta de tomate que lleva un gen conocido de resistencia a nematodos del nudo de la raíz, una planta de tomate que tiene cualquier otra resistencia o la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz divulgada en la presente memoria.

En la etapa (a), el método para cruzar la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz con otra planta de tomate no está particularmente limitado, y se puede emplear un método conocido.

En la etapa (b), las plantas de tomate de las que se va a seleccionar una planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz pueden ser, por ejemplo, las plantas de tomate obtenidas en la etapa (a) o líneas de progenie obtenidas a partir de estas plantas de tomate, por ejemplo. Específicamente, por ejemplo, las plantas de tomate de las que se va a seleccionar una planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz pueden ser las plantas de tomate F1 obtenidas mediante el cruce en la etapa (a) o sus líneas de progenie. La línea de progenie puede ser una progenie autofecundada o una progenie de retrocruzamiento de la planta de tomate F1 obtenida mediante el cruce en la etapa (a), o puede ser una planta de tomate obtenida mediante el cruce de la planta de tomate F1 con otra planta de tomate, por ejemplo.

En la etapa (b), la selección de una planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz se puede lograr, por ejemplo, examinando la resistencia a nematodos del nudo de la raíz de forma directa o indirecta.

En la etapa (b), el examen directo puede llevarse a cabo evaluando la resistencia a nematodos del nudo de la raíz de la planta de tomate F1 obtenida o una línea de progenie de la misma sobre la base de la gravedad descrita anteriormente, por ejemplo. Específicamente, por ejemplo, el examen directo puede llevarse a cabo inoculando la planta de tomate F1 o la línea de progenie de la misma con nematodos del nudo de la raíz y evaluando la resistencia a nematodos del nudo de la raíz sobre la base de la gravedad. En este caso, por ejemplo, la planta de tomate F1 o la línea de progenie que muestra la gravedad de 1 o menos puede seleccionarse como una planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz.

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

(b1) detectar la presencia o ausencia de un locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz en un cromosoma de cada una de las plantas de tomate obtenidas en la etapa (a) o líneas de progenie de las mismas; y

(b2) seleccionar las plantas de tomate obtenidas en la etapa (a) o líneas de progenie de las mismas que tienen el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz como una planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz.

La selección de la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz en la etapa (b) se puede realizar de la misma manera que en la etapa (x), es decir, detectando la presencia o ausencia del locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz, por ejemplo. Más específicamente, la selección se puede realizar detectando la presencia o ausencia del locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz utilizando el marcador molecular.

El método de producción divulgado en la presente memoria incluye además preferiblemente el cultivo de la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz seleccionada en la etapa (b).

La planta de tomate o la línea de progenie que haya demostrado ser resistente a nematodos del nudo de la raíz de la manera descrita anteriormente puede seleccionarse como planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz.

El método de producción divulgado en la presente memoria puede incluir además la etapa de recolectar semillas de la línea de progenie obtenida a partir de la línea obtenida mediante el cruce.

4. Método de cribado para plantas de tomate resistentes a nematodos del nudo de la raíz

Como se describió anteriormente, el método de cribado para una planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz divulgado en la presente memoria (también denominado simplemente "método de cribado" de aquí en adelante en la presente memoria) incluye la etapa de: como progenitor para producir una planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz mediante cruzamiento, seleccionar una planta de tomate que incluye, como marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz para una planta de tomate, un locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el cromosoma 4 de una o más plantas de tomate que se van a examinar.

El método de cribado se caracteriza porque incluye la etapa de seleccionar una planta que incluye, como marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz para una planta de tomate, un locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el cromosoma 4 de una o más plantas de tomate que se van a examinar, y otras etapas y condiciones no están limitados de ninguna manera. Según el método de cribado divulgado en la presente memoria, se puede obtener un progenitor resistente a nematodos del nudo de la raíz utilizando el marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz divulgado en la presente memoria.

En cuanto a la selección del progenitor, es aplicable, por ejemplo, la explicación de la etapa (x) proporcionada anteriormente en relación con el método para producir una planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz.

Ejemplos

- 5 La presente invención se describirá específicamente a continuación con referencia a ejemplos. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que la presente invención no se limita de ninguna manera a las realizaciones descritas en los siguientes ejemplos.

[Ejemplo 1]

El presente ejemplo analizó el modo de herencia del locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz en una nueva planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz.

- 10 Con el fin de desarrollar una nueva planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz, se sometió a cultivo una gran cantidad de semillas recolectadas de líneas de tomate obtenidas mediante subcultivo en una granja propiedad de TAKII & CO., LTD., y se examinó la resistencia a nematodos del nudo de la raíz de las líneas de tomate resultantes. Como resultado, se obtuvo una nueva línea de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz (*S. lycopersicum*) que presenta resistencia a nematodos del nudo de la raíz a una temperatura de 28 °C o superior.
- 15 Esta nueva planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz se depositó con el No. de Acceso FERM BP-22251. De aquí en adelante en la presente memoria, esta planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz se denominará "línea depositada".

- Se cruzó una planta de tomate de la línea depositada (No. de Acceso FERM BP-22251) con una planta de tomate susceptible a nematodos del nudo de la raíz "Vespa (TAKII & CO., LTD., *S. lycopersicum*)", con lo que se obtuvo una
- 20 población segregante F2 formada por 141 individuos (también denominados de aquí en adelante en la presente memoria "141 líneas"). Además, una planta de tomate de la línea depositada se cruzó con una planta de tomate susceptible a nematodos del nudo de la raíz "Kagemusha (TAKII & CO., LTD., *S. lycopersicum*)", con lo que se obtuvo una población segregante F2 formada por 70 individuos (también denominada de aquí en adelante en la presente memoria "70 líneas"). Vespa y Kagemusha son cada uno un portainjerto resistente a nematodos del nudo de la raíz
- 25 complejo que lleva un gen de resistencia a nematodos del nudo de la raíz Mi-1, pero es susceptible a nematodos del nudo de la raíz a una temperatura de 28 °C o superior. Las 141 líneas y las 70 líneas se sometieron a una prueba de inoculación de nematodos del nudo de la raíz que se describirá a continuación. Además, como parcelas de control, se usaron poblaciones formadas cada una por 20 individuos obtenidos de Helper-M (TAKII & CO., LTD., *S. lycopersicum*), Anchor-T (TAKII & CO., LTD., *S. lycopersicum*), Kagemusha, Vespa, Moneymaker (*S. lycopersicum*), y la planta de
- 30 tomate de la línea depositada. Helper-M y Anchor-T son cada uno un portainjerto complejo resistente a nematodos del nudo de la raíz que lleva un gen de resistencia a nematodos del nudo de la raíz Mi-1, pero es susceptible a nematodos del nudo de la raíz a una temperatura de 28 °C o superior. Moneymaker es un vástago que no lleva Mi-1 y es susceptible a nematodos del nudo de la raíz.

- La prueba de inoculación de nematodos del nudo de la raíz se realizó de la siguiente manera sobre la base del método descrito en la bibliografía "Sentyu-gaku Jikken-hou (Experimental Techniques in Nematology) publicado el 25 de marzo de 2004 (Sociedad Nematológica Japonesa)".
- 35

- Como nematodos del nudo de la raíz, se utilizaron aquellos derivados de una única masa de huevos de nematodos del nudo de la raíz del sur recolectados de un invernadero de cultivo de tomates en la prefectura de Yamanashi. Primero, se colocó tierra esterilizada en vasos de cultivo y se cultivaron dos individuos de plántulas de tomate libres de
- 40 nematodos del nudo de la raíz durante 30 días en una incubadora a 30 °C ± 1 °C. Luego, en la tierra alrededor de la raíz de cada plántula de tomate cultivada durante 30 días, se formaron tres orificios de inoculación con una varilla de vidrio teniendo cada uno un diámetro de 10 mm y una profundidad de 20 mm. Posteriormente, los nematodos del nudo de la raíz se suspendieron en agua clarificada a una densidad de 200 nematodos del nudo de la raíz/ml. Se aspiró 1 ml de la suspensión de nematodos del nudo de la raíz con una pipeta Komagome y se logró la inoculación
- 45 suministrando la suspensión a estos orificios de inoculación (1 ml/orificio). Las plántulas se cultivaron nuevamente en las mismas condiciones. Después de un lapso de 40 días desde la inoculación, se recolectaron las raíces de los individuos adultos, se lavaron con agua y se realizó la investigación de la enfermedad de la siguiente manera.

La investigación de la enfermedad se llevó a cabo sobre la base del método descrito en el Documento No de Patente 4. Como índice de la enfermedad, se evaluó el grado de agallas en las raíces según los siguientes criterios.

- 50 Gravedad de las agallas en la raíz 0: No hay agalla en la raíz.

Gravedad de las agallas en la raíz 1: Hay algunas agallas en la raíz, pero no hay daños notables.

Gravedad de las agallas en la raíz 2: La presencia de agallas en la raíz es evidente. Sin embargo, solo hay unas pocas agallas en la raíz grandes y/o agallas en la raíz ligadas.

- 55 Gravedad de las agallas en la raíz 3: Se observan muchas agallas en la raíz grandes y pequeñas. Algunas de las raíces están cubiertas de agallas en la raíz y se hinchan, pero la proporción de agallas en la raíz no supera el 50 %

de toda la región de la raíz.

Gravedad de las agallas en la raíz 4: La mayoría de las raíces están cubiertas de agallas en la raíz y se hinchan.

El resultado de la investigación de la enfermedad se muestra en la Tabla 1. Como se puede ver en la Tabla 1, entre las 141 líneas, la gravedad de las agallas en la raíz no fue más de 1 en 105 individuos, lo que representó el 74 % de todos los individuos. Por otro lado, entre las 70 líneas, la gravedad de las agallas en la raíz no fue más de 1 en 50 individuos, lo que representó el 71 % de todos los individuos. A partir de la correlación de la gravedad de las agallas en la raíz en las 141 líneas y las 70 líneas con las frecuencias de aparición de estos individuos, se encontró que el modo de herencia de la resistencia a nematodos del nudo de la raíz en la línea depositada es unifactorial dominante. Además, Helper-M, Anchor-T, Kagemusha y Vespa, cada uno con Mi-1 y Moneymaker sin Mi-1, se sometieron a la prueba en las mismas condiciones. Como resultado, se demostró que presentan susceptibilidad a nematodos del nudo de la raíz dependiendo de una condición de crecimiento de $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, mientras que la línea depositada es resistente a nematodos del nudo de la raíz. Como criterio de evaluación de la gravedad de las agallas en la raíz, la fotografía de la FIG. 1 muestra ejemplos representativos de un individuo que presenta la gravedad de las agallas en la raíz de 0 y un individuo que presenta la gravedad de las agallas en la raíz 4.

15

[Tabla 1]

	Gravedad de las agallas en la raíz					Número total de individuos	Proporción de individuos con gravedad de las agallas en la raíz de 1 o menos
	0	1	2	3	4		
Población segregante F2 (141 líneas)	101 individuos	4 individuos	3 individuos	8 individuos	25 individuos	141 individuos	74%
Población segregante F2 (70 líneas)	35 individuos	15 individuos	0 individuos	19 individuos	1 individuo	70 individuos	71%
Línea depositada	17 individuos	3 individuos	0 individuos	0 individuos	0 individuos	20 individuos	100%
Helper-M	0 individuos	0 individuos	2 individuos	1 individuo	17 individuos	20 individuos	0%
Anchor-T	0 individuos	0 individuos	1 individuo	0 individuos	19 individuos	20 individuos	0%
Kagemusha	0 individuos	0 individuos	1 individuo	4 individuos	15 individuos	20 individuos	0%
Vespa	0 individuos	0 individuos	2 individuos	2 individuos	16 individuos	20 individuos	0%
Money-maker	0 individuos	0 individuos	0 individuos	0 individuos	20 individuos	20 individuos	0%

[Ejemplo 2]

El presente ejemplo llevó a cabo la identificación de un nuevo locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz con respecto a las 141 líneas de la población segregante F2 obtenida en el Ejemplo 1.

5 Los ADN extraídos de las 141 líneas se sometieron a genotipado según el ensayo SOLCAP SNP (véanse las siguientes bibliografías). Posteriormente, se prepararon mapas de ligamiento utilizando un software (Join Map) y se realizó un análisis de ligamiento utilizando un software (Win QTL cartographer).

Bibliografía: Hamilton J P, Sim S C, Stoffel K, Van Deynze A, Buell CR, et al. (2012) Single Nucleotide Polymorphism Discovery in Cultivated Tomato via Sequencing by Synthesis. The Plant Genome 5.

10 Bibliografía: Sim S-C, Durstewitz G, Plieske J, Wieseke R, Ganai MW, et al. (2012) Development of a Large SNP Genotyping Array and Generation of High-Density. Genetic Maps in Tomato. PLoS ONE 7(7)

Bibliografía: Blanca J, Cañizares J, Cordero L, Pascual L, Diez MJ, et al. (2012) Variation Revealed by SNP Genotyping and Morphology Provides Insight into the Origin of the Tomato. PLoS ONE 7(10)

15 Además, mediante la recuperación web utilizando secuencias del genoma del tomate disponibles para el público en el sitio web de la Red de Genómica SOL (<http://solgenomics.net/>), se identificaron los polimorfismos presentes únicamente en ambos progenitores, es decir, la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz (la línea depositada) y la planta de tomate susceptible a nematodos del nudo de la raíz (Moneymaker). Además, en la población segregante F2, los polimorfismos observados en individuos portadores de los polimorfismos en forma homocigótica y en individuos portadores de los polimorfismos en forma heterocigótica se identificaron como marcadores SNP. Luego, utilizando los marcadores SNP así identificados, se realizó el análisis de ligamiento de la misma manera.

20 Como resultado, en el cromosoma 4, se identificó una región con alta correlación con la gravedad de las agallas en la raíz. La región incluye SNP identificados por los siguientes marcadores SNP: solcap_snp_sl_21346, solcap_snp_sl_21364, TK43, YU06, YK66, TY38, AR02, HT12, solcap_snp_sl_64250, solcap_snp_sl_21383, solcap_snp_sl_21385 y solcap_snp_sl_21390. Este resultado reveló que un nuevo locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz está localizado en el cromosoma 4. Como se describió anteriormente, los loci de resistencia a nematodos del nudo de la raíz conocidos están localizados en el cromosoma 6 y el cromosoma 12. Por lo tanto, se reveló que el locus del gen de nematodos del nudo de la raíz es un nuevo locus del gen de resistencia diferente de los loci del gen de resistencia conocidos.

[Ejemplo 3]

30 Se obtuvieron recientemente 96 individuos (también denominados "96 líneas" de aquí en adelante en la presente memoria) en una población segregante F2 de la misma manera que para las 141 líneas en el Ejemplo 1. Luego, con respecto a las 96 líneas así obtenidas, se realizó un ensayo de SNP de la misma manera que en el Ejemplo 2 para identificar las bases correspondientes a los polimorfismos de los marcadores de SNP, solcap_snp_sl_21346, solcap_snp_sl_21364, TK43, YU06, YK66, TY38, AR02, HT12, solcap_snp_sl_64250, solcap_snp_sl_21383, solcap_snp_sl_21385 y solcap_snp_sl_21390. Además, con respecto a estos individuos, la prueba de inoculación de nematodos del nudo de la raíz se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 1. Los resultados de la misma se muestran en la Tabla 2. En la Tabla 2, "homo resistente" indica un individuo que porta los marcadores SNP en forma homocigótica de tipo resistente; "hetero" indica un individuo que porta los marcadores SNP en forma heterocigótica; y "homo susceptible" indica un individuo que porta los marcadores SNP en forma homocigótica de tipo susceptible. Como se puede ver en la Tabla 2, los individuos indicados como "homo resistente" y "hetero" exhibieron todos, una gravedad de las agallas en la raíz de 1 o menos. Esto demuestra que los marcadores SNP son responsables de la resistencia a nematodos del nudo de la raíz.

[Tabla 2]

	Gravedad de las agallas en la raíz					Número total de individuos	Proporción de individuos con gravedad de las agallas en la raíz de 1 o menos
	0	1	2	3	4		
Homo resistente	22 individuos	3 individuos	0 individuos	0 individuos	0 individuos	25 individuos	100%
Hetero	40 individuos	5 individuos	0 individuos	0 individuos	0 individuos	45 individuos	100%
Homo susceptible	0 individuos	0 individuos	1 individuo	6 individuos	19 individuos	26 individuos	0%

A continuación, de las 96 líneas de la población segregante F2, se seleccionaron tres individuos portadores de los marcadores SNP en forma homocigótica de tipo resistente y tres individuos portadores de los marcadores SNP en forma homocigótica de tipo susceptible. Se autocruzaron y se obtuvieron semillas de las 6 líneas así obtenidas de la población F3.

- 5 Utilizando las semillas de las 6 líneas de la población F3, se obtuvieron 10 individuos de cada línea. Después, de la misma manera que en el Ejemplo 1, se sometieron a pruebas de inoculación utilizando el nematodo del nudo de la raíz del maní (*M. arenaria*) y el nematodo del nudo de la raíz de Java (*M. javanica*), y se evaluó su resistencia a estos nematodos.

- 10 Como resultado, todos los individuos ensayados que portaban los marcadores SNP en forma homocigótica de tipo resistente exhibieron una gravedad de agallas en la raíz de 1 o menos, por lo que se encontró que eran resistentes a los nematodos del nudo de la raíz. Por el contrario, todos los individuos ensayados que portaban el marcador SNP en forma homocigótica de tipo susceptible exhibieron una gravedad de agallas en la raíz de 3 o más, por lo que se encontró que eran susceptibles a los nematodos del nudo de la raíz. Estos resultados revelaron que el gen de resistencia localizado en el locus del gen de resistencia confiere resistencia no solo contra el nematodo del nudo de la raíz del sur, sino también contra el nematodo del nudo de la raíz del maní y el nematodo del nudo de la raíz de Java.
- 15

[Ejemplo 4]

- Se obtuvieron recientemente 62 individuos (también denominados "62 líneas" de aquí en adelante en la presente memoria) en una población segregante F2 de la misma manera que para las 70 líneas en el Ejemplo 1. Luego, con respecto a las 62 líneas así obtenidas, se realizó un ensayo SNP de la misma manera que en el Ejemplo 2 para identificar las bases correspondientes a los polimorfismos de los marcadores SNP, solcap_snp_sl_21346, solcap_snp_sl_21364, TK43, YU06, YK66, TY38, AR02, HT12, solcap_snp_sl_64250, solcap_snp_sl_21383, solcap_snp_sl_21385 y solcap_snp_sl_21390. Además, con respecto a estos individuos, la prueba de inoculación de nematodos del nudo de la raíz se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 1. Los resultados de la misma se muestran en la Tabla 3. En la Tabla 3, "homo resistente" indica un individuo que porta los marcadores SNP en forma homocigótica de tipo resistente; "hetero" indica un individuo que porta los marcadores SNP en forma heterocigótica; y "homo susceptible" indica un individuo que porta los marcadores SNP en forma homocigótica de tipo susceptible. Como se puede ver en la Tabla 3, los individuos indicados como "homo resistente" y "hetero" exhibieron todos, una gravedad de agallas en la raíz de 1 o menos. Esto demuestra que los marcadores SNP son responsables de la resistencia del nematodo del nudo de la raíz.
- 20
- 25

[Tabla 3]

	Gravedad de las agallas en la raíz					Número total de individuos	Proporción de individuos con gravedad de las agallas en la raíz de 1 o menos
	0	1	2	3	4		
Homo resistente	11 individuos	2 individuos	0 individuos	0 individuos	0 individuos	13 individuos	100%
Hetero	32 individuos	2 individuos	0 individuos	0 individuos	0 individuos	34 individuos	100%
Homo susceptible	0 individuos	0 individuos	0 individuos	4 individuos	11 individuos	15 individuos	0%

A continuación, de las 62 líneas de la población segregante F2, se seleccionaron tres individuos portadores de los marcadores SNP en forma homocigótica de tipo resistente y tres individuos portadores de los marcadores SNP en forma homocigótica de tipo susceptible. Se autocruzaron y se obtuvieron semillas de las 6 líneas así obtenidas de la población F3.

- 5 Utilizando las semillas de las 6 líneas de la población F3, se obtuvieron 10 individuos de cada línea. Después, de la misma manera que en el Ejemplo 1, se sometieron a pruebas de inoculación utilizando el nematodo del nudo de la raíz del maní (*M. arenaria*) y el nematodo del nudo de la raíz de Java (*M. javanica*), y se evaluó su resistencia a estos nematodos.

10 Como resultado, todos los individuos ensayados que portaban los marcadores SNP en forma homocigótica de tipo resistente exhibieron la gravedad de agallas en la raíz de 1 o menos, por lo que se encontró que eran resistentes a los nematodos del nudo de la raíz. Por el contrario, todos los individuos ensayados que portaban el marcador SNP en forma homocigótica de tipo susceptible exhibieron la gravedad de agallas en la raíz de 3 o más, por lo que se encontró que eran susceptibles a los nematodos del nudo de la raíz. Estos resultados revelaron que el gen de resistencia localizado en el locus del gen de resistencia confiere resistencia no solo contra el nematodo del nudo de la raíz del sur, sino también contra el nematodo del nudo de la raíz del maní y el nematodo del nudo de la raíz de Java.

15 **[Ejemplo 5]**

Se preparó una población segregante F2 y se examinó la correlación entre los marcadores SNP y la resistencia a nematodos del nudo de la raíz.

Se obtuvo recientemente una población segregante F2 de la misma manera que para las 141 líneas del Ejemplo 1. Luego, con respecto a la población segregante F2 así obtenida, se identificaron las bases correspondientes a los polimorfismos de los marcadores SNP, `solcap_snp_sl_21346` y `solcap_snp_sl_21390`, de la misma manera que en el Ejemplo 2. Además, de la población segregante F2, se seleccionaron siete individuos que portaban los marcadores SNP identificados en genotipos diferentes entre sí (cuerpos de planta 1 a 7, también denominados "siete líneas" de aquí en adelante en la presente memoria). Luego, con respecto a estas siete líneas, se realizó el ensayo de SNP de la misma manera que en el Ejemplo 2 para identificar las bases correspondientes a los polimorfismos de los marcadores de SNP, `solcap_snp_sl_21364`, `TK43`, `YU06`, `YK66`, `TY38`, `AR02`, `HT12`, `solcap_snp_sl_64250`, `solcap_snp_sl_21383` y `solcap_snp_sl_21385`. Con respecto a estos individuos, se realizó la prueba de inoculación de nematodos del nudo de la raíz de la misma manera que en el Ejemplo 1. Los resultados de la misma se muestran en la Tabla 4. En la Tabla 4, "A" indica la presencia de los marcadores de SNP en forma homocigótica de tipo resistente, "H" indica la presencia de los marcadores de SNP en forma heterocigótica y "B" indica la presencia de los marcadores de SNP en forma homocigótica de tipo susceptible. En la Tabla 4, A y H están sombreadas. Como se puede ver en la Tabla 4, la gravedad de agallas en la raíz fue 1 o menos en todos los individuos portadores de YK66, TY38, AR02 y HT12 en forma homocigótica de tipo resistente (A) o en forma heterocigótica (H). A partir de estos resultados, se encontró que, entre los marcadores SNP, YK66, TY38, AR02 y HT12 están altamente correlacionados con la resistencia a nematodos del nudo de la raíz. Además, se encontró que, debido a que YK66, TY38, AR02 y HT12 están altamente correlacionados con la resistencia a nematodos del nudo de la raíz, una región entre los sitios de YU06 y `solcap_snp_sl_64250`, que es una región que incluye los marcadores SNP anteriores, muestra una alta correlación con la resistencia a nematodos del nudo de la raíz.

[Tabla 4]

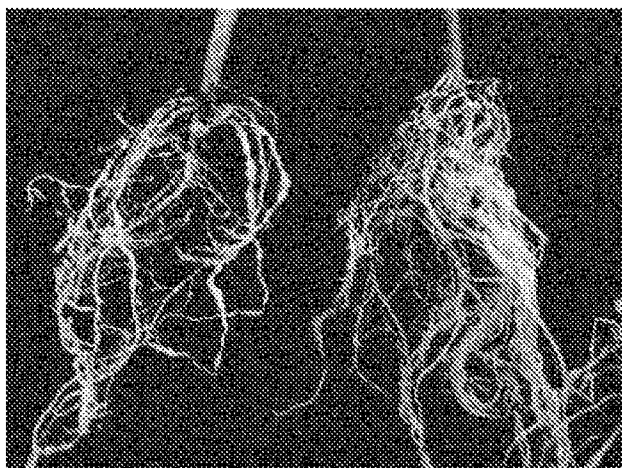
	solcap_snp _sl_21343	solcap_snp _sl_21361	TV43	YU06	YK06	TY08	AD02	HT12	solcap_snp _sl_64250	solcap_snp _sl_21383	solcap_snp _sl_21385	solcap_snp _sl_21390	Gravedad de las agallas en la raíz
Cuerpo de planta 1	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	0
Cuerpo de planta 2	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	0
Cuerpo de planta 3	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	3
Cuerpo de planta 4	B	B	B	B	H	H	H	H	H	H	H	H	0
Cuerpo de planta 5	H	H	H	H	H	H	H	H	B	B	B	B	0
Cuerpo de planta 6	B	B	B	B	B	B	B	B	H	H	H	H	3
Cuerpo de planta 7	H	H	H	H	B	B	B	B	B	B	B	B	4

Aplicabilidad industrial

Como se ha descrito específicamente anteriormente, el marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz para plantas de tomate divulgado en la presente memoria permite un cribado fácil de una planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz, por ejemplo. Además, la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz divulgada en la presente memoria incluye, por ejemplo, el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el cromosoma 4, de modo que puede exhibir resistencia a nematodos del nudo de la raíz sin depender de las condiciones de temperatura en un entorno de crecimiento, por ejemplo. Además, debido a que la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz divulgada en la presente memoria incluye, por ejemplo, un locus de gen de resistencia dominante, es posible obtener progenies que exhiban resistencia a nematodos del nudo de la raíz heredada de manera dominante mediante el cruzamiento con otras plantas de tomate. Además, debido a que la presente divulgación puede eliminar la necesidad de tratamientos del suelo realizados de manera convencional, también se puede evitar, por ejemplo, el problema de la mano de obra y el costo de los tratamientos del suelo.

REIVINDICACIONES

1. Uso de un marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz para identificar un locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz del cromosoma 4 de una planta de tomate identificada con el No. de Acceso FERM BP-22251, marcador que es al menos un marcador SNP seleccionado del grupo que consiste en: (a) YK66, (b) TY38, (c) AR02 y (d) HT12, en donde:
 - (a) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 21;
 - (b) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 22;
 - (c) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 23; y
 - (d) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 24.
2. Un método de cribado para una planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz para seleccionar un progenitor para producir una planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz mediante cruzamiento, comprendiendo el método de cribado la etapa de seleccionar una planta de tomate que comprende un locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el cromosoma 4 de una o más plantas de tomate a examinar, en donde el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz se identifica utilizando un marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz, marcador que es al menos un marcador SNP seleccionado del grupo que consiste en: (a) YK66, (b) TY38, (c) AR02, y (d) HT12, en donde:
 - (a) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 21;
 - (b) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 22;
 - (c) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 23; y
 - (d) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 24.
3. Un marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz para identificar un locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz del cromosoma 4 de una planta de tomate identificada con el No. de Acceso FERM BP-22251, marcador que es al menos un marcador SNP seleccionado del grupo que consiste en (a) YK66, (b) TY38, (c) AR02 y (d) HT12, en donde:
 - (a) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 21;
 - (b) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 22;
 - (c) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 23; y
 - (d) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 24.
4. Una planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz que comprende un locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz en el cromosoma 4 caracterizado por un marcador de resistencia a nematodos del nudo de la raíz, marcador que es al menos un marcador SNP seleccionado del grupo que consiste en: (a) YK66, (b) TY38, (c) AR02 y (d) HT12, en donde:
 - (a) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 21;
 - (b) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 22;
 - (c) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 23; y
 - (d) es un polinucleótido que consiste en una secuencia de bases de la SEQ ID NO: 24,en donde el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz en la planta de tomate comprende el locus de resistencia a nematodos del nudo de la raíz de la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz identificada por el No. de Acceso FERM BP-22251.
5. La planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz según la reivindicación 4, en donde la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz es una parte de la planta.
6. La planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz según la reivindicación 4 o 5, en donde la planta de tomate resistente a nematodos del nudo de la raíz es una semilla.



Gravedad de las agallas
en la raíz: 4
(Barrera B)

Gravedad de las agallas
en la raíz: 0
(línea depositada)

FIG. 1

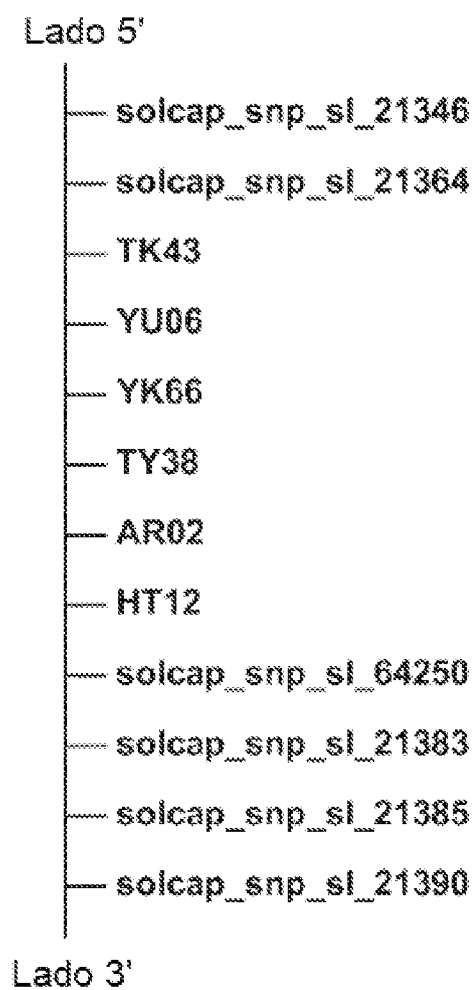


FIG. 2