

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2012-0101005 (43) 공개일자 2012년09월12일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) C12Q 1/68 (2006.01) C12N 15/11 (2006.01) A01H 5/00 (2006.01)		(71) 출원인 세미니스 베저터블 시즈 인코포레이티드 미국 63167 미주리주 세인트 루이스 노쓰 린드버그 블레바드 800
(21) 출원번호 10-2012-7013075	(22) 출원일자(국제) 2010년10월22일 심사청구일자 없음	(72) 발명자 칼드웰, 데이비드 미국 63167 미주리주 세인트 루이스 노쓰 린드버그 블레바드 800
(85) 번역문제출일자 2012년05월21일	(86) 국제출원번호 PCT/US2010/053812	찬, 에바 미국 63167 미주리주 세인트 루이스 노쓰 린드버그 블레바드 800 (뒷면에 계속)
(87) 국제공개번호 WO 2011/050296 국제공개일자 2011년04월28일	(30) 우선권주장 61/254,141 2009년10월22일 미국(US)	(74) 대리인 양영준, 양영환
전체 청구항 수 : 총 46 항		
(54) 발명의 명칭 노균병 저항성 오이 식물의 확인을 위한 방법 및 조성물		

(57) 요약

본 발명은 노균병에 대한 증가된 저항성을 갖는 오이 식물주를 확인하기 위한 방법, 및 상기 증가된 질병 저항성을 조건화하는 유전자(들)에 연관된 유전자 마커의 확인에 관한 것이다. 본 발명은 또한 마커-보조 선택에 의해 증가된 노균병 저항성을 갖는 오이 식물주로부터 오이 식물을 육종하는 방법, 그러한 마커 보조 선택을 위해 유용한 핵산 프로브 또는 프라이머를 포함하는 조성물, 및 상기 방법에 의해 생산된 식물 및 식물 부위에 관한 것이다.

(72) 발명자

데 프리스, 예룬

미국 63167 미주리주 세인트 루이스 노쓰 린드버그
불레바드 800

주버, 타렉

미국 63167 미주리주 세인트 루이스 노쓰 린드버그
불레바드 800

킹, 조셉

미국 63167 미주리주 세인트 루이스 노쓰 린드버그
불레바드 800

레이나, 안토니오

미국 63167 미주리주 세인트 루이스 노쓰 린드버그
불레바드 800

세티, 니셧

미국 63167 미주리주 세인트 루이스 노쓰 린드버그
불레바드 800

특허청구의 범위

청구항 1

a) 노균병에 대한 저항성을 부여하는 QTL에 유전적으로 연관된 적어도 제1 유전자 마커의 존재에 대해 오이 식물을 검정하는 단계; 및

b) 상기 유전자 마커 및 노균병에 대한 저항성을 부여하는 QTL을 포함하는 적어도 제1 오이 식물을 선택하는 단계

를 포함하고, 여기서 QTL은 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 25.2 cM 및 82.7 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0228457 및 SNP 마커 NN0228148로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; QTL은 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 20.6 cM 및 87.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0225012 및 SNP 마커 NN0227587로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; 또는 QTL은 오이 염색체 2로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 22.5 cM 및 88.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0223782 및 SNP 마커 NN0226638로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하는 것인, 오이 생식질을 얻는 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, QTL이 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 35.7 cM 및 55.5 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0227981 및 SNP 마커 NN0226631로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; 또는 QTL이 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 35.7 cM 및 71.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0227981 및 SNP 마커 NN0247786으로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하는 것인 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, QTL이 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 25.8 cM 및 82.0 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0228579 및 SNP 마커 NN0224495로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; QTL이 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 30.4 cM 및 75.8 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0225088 및 SNP 마커 NN0224041로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; 또는 QTL이 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 54.5 cM 및 82.0 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0228579 및 SNP 마커 NN0224495로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하는 것인 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, QTL이 오이 염색체 2로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 14.6 cM 및 38.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0246378 및 SNP 마커 NN0246472로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하는 것인 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 노균병에 대한 저항성을 부여하는 대립유전자가 오이 식물주 PI197088, 또는 그의 자손체 식물로부터 유래되는 것인 방법.

청구항 6

제1항에 있어서, 제1 오이 식물을 선택하는 단계가 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 25.2 cM 및 82.7 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0228457 및 SNP 마커 NN0228148로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하는 다수의 유전자 마커의 존재를 기초로 하여 식물을 선택하는 것을 추가로 포함하거나; 또는 QTL이 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 35.7 cM 및 55.5 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0227981 및 SNP 마커 NN0226631로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; 또는 QTL이 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 35.7 cM 및 71.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0227981 및 SNP 마커 NN0247786으로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; 또는 QTL이 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 20.6 cM 및 87.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0225012 및 SNP 마커 NN0227587로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; 또는 QTL이 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 54.5 cM 및 82.0 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0247342 및 SNP 마커 NN0224495로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; 또는 QTL이 오이 염색체 2로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 22.5 cM 및 88.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0223782 및 SNP 마커

NN0226638로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하는 것인 방법.

청구항 7

제1항에 있어서, 유전자 마커가 서열 20-87 중의 하나의 단일 뉴클레오타이드 다형성을 포함하는, 마커 NN0223782, NN0225385, NN0226670, NN0224124, NN0246472, NN0225358, NN0227700, NN0224617, NN0247695, NN0227242, NN0223824, NN0223181, NN0226638, NN0225012, NN0228579, NN0226451, NN0225088, NN0226219, NN0247551, NN0246357, NN0225551, NN0226732, NN0247689, NN0247342, NN0224702, NN0225482, NN0224538, NN0247543, NN0224041, NN0228853, NN0227762, NN0227587, NN0228457, NN0246356, NN0246332, NN0223399, NN0223689, NN0247731, NN0226166, NN0225480, NN0246411, NN0227759, NN0247348, NN0228465, NN0247786, NN0226645, NN0223809, NN0227071, NN0226870, NN0228148, NN0246378, NN0224041, NN0227587, NN5096749, NN0224856, NN0223160, NN0223809, NN0226631, NN0227981, NN0247786, NN0246425, NN0224495, NN0225088, NN0227071, NN0223782, NN0228579, NN0247342, 및 NN0247731로 이루어지는 군 중에서 선택되는 것인 방법.

청구항 8

제7항에 있어서, 유전자 마커가 마커 NN0223782, NN0225385, NN0226670, NN0224124, NN0246472, NN0225358, NN0227700, NN0224617, NN0247695, NN0227242, NN0223824, NN0223181, NN0226638, 및 NN0246378로 이루어지는 군 중에서 선택되는 것인 방법.

청구항 9

제7항에 있어서, 유전자 마커가 마커 NN0225012, NN0228579, NN0226451, NN0225088, NN0226219, NN0247551, NN0246357, NN0225551, NN0226732, NN0247689, NN0247342, NN0224702, NN0225482, NN0224538, NN0247543, NN0224041, NN0228853, NN0227762, NN0227587, NN0224041, NN0227587, NN0246425, NN0224495, NN0225088, NN0228579, 및 NN0247342로 이루어지는 군 중에서 선택되는 것인 방법.

청구항 10

제7항에 있어서, 유전자 마커가 마커 NN0228457, NN0246356, NN0246332, NN0223399, NN0223689, NN0247731, NN0226166, NN0225480, NN0246411, NN0227759, NN0247348, NN0228465, NN0247786, NN0226645, NN0223809, NN0227071, NN0226870, NN0228148, NN5096749, NN0224856, NN0223160, NN0223809, NN0226631, NN0227981, NN0247786, NN0227071, 및 NN0247731로 이루어지는 군 중에서 선택되는 것인 방법.

청구항 11

제1항에 있어서, 오이 식물을 검정하는 단계가 PCR, 단일가닥 입체형태적 다형성 분석, 변성 구배 겔 전기영동, 절단 단편 길이 다형성 분석, TAQMAN 검정, 및/또는 DNA 서열분석을 포함하는 것인 방법.

청구항 12

제1항에 있어서, 유전자 마커가 노균병에 대한 저항성을 부여하는 QTL의 20 cM, 10 cM 또는 1 cM 내에 위치하는 것인 방법.

청구항 13

제1항에 있어서, 유전자 마커가 NN0226631 또는 NN0246425인 방법.

청구항 14

- 노균병에 대한 저항성을 부여하는 QTL에 유전적으로 연관된 적어도 제1 유전자 마커의 존재에 대해 오이 식물을 검정하는 단계;
- 상기 유전자 마커 및 노균병에 대한 저항성을 부여하는 QTL을 포함하는 적어도 제1 오이 식물을 선택하는 단계; 및
- 제1 오이 식물을 그 자체 또는 제2 오이 식물과 교배하여 노균병에 대한 저항성을 부여하는 QTL을 포함하는 자손체 오이 식물을 생산하는 단계

를 포함하고, 여기서 QTL이 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 25.2 cM 및 82.7 cM에 위치

하는 SNP 마커 NN0228457 및 SNP 마커 NN0228148로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; QTL이 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 35.7 cM 및 55.5 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0227981 및 SNP 마커 NN0226631로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; QTL이 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 35.7 cM 및 71.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0227981 및 SNP 마커 NN0247786으로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; QTL이 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 20.6 cM 및 87.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0225012 및 SNP 마커 NN0227587로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; QTL이 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 54.5 cM 및 82.0 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0247342 및 SNP 마커 NN0224495로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; 또는 QTL이 오이 염색체 2로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 22.5 cM 및 88.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0223782 및 SNP 마커 NN0226638로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하는 것인 오이 식물 육종 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 적어도 제1 오이 식물을 선택하는 단계가 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 25.2 cM 및 82.7 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0228457 및 SNP 마커 NN0228148로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하는 다수의 유전자 마커의 존재를 기초로 하여 식물을 선택하는 것을 추가로 포함하고; 여기서 QTL이 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 35.7 cM 및 55.5 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0227981 및 SNP 마커 NN0226631로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; QTL이 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 35.7 cM 및 71.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0227981 및 SNP 마커 NN0247786으로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; QTL이 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 20.6 cM 및 87.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0225012 및 SNP 마커 NN0227587로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; QTL이 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 54.5 cM 및 82.0 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0247342 및 SNP 마커 NN0224495로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; 또는 QTL이 오이 염색체 2로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 22.5 cM 및 88.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0223782 및 SNP 마커 NN0226638로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하는 것인 방법.

청구항 16

제14항에 있어서, d) 노균병에 대한 저항성을 부여하는 대립유전자를 포함하는 자손체 식물을 선택하고, 자손체 식물을 그 자체 또는 제3 오이 식물과 교배하여 추가의 자손체 식물을 생산하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 17

제16항에 있어서, 단계 (d)를 약 2-10회 반복하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 18

제14항에 있어서, 노균병에 대한 저항성을 부여하는 대립유전자가 오이 식물주 PI197088, 또는 그의 자손체 식물로부터 유래되는 것인 방법.

청구항 19

제14항에 있어서, 유전자 마커가 서열 20-87 중의 하나의 단일 뉴클레오타이드 다형성을 포함하는 마커 NN0223782, NN0225385, NN0226670, NN0224124, NN0246472, NN0225358, NN0227700, NN0224617, NN0247695, NN0227242, NN0223824, NN0223181, NN0226638, NN0225012, NN0228579, NN0226451, NN0225088, NN0226219, NN0247551, NN0246357, NN0225551, NN0226732, NN0247689, NN0247342, NN0224702, NN0225482, NN0224538, NN0247543, NN0224041, NN0228853, NN0227762, NN0227587, NN0228457, NN0246356, NN0246332, NN0223399, NN0223689, NN0247731, NN0226166, NN0225480, NN0246411, NN0227759, NN0247348, NN0228465, NN0247786, NN0226645, NN0223809, NN0227071, NN0226870, NN0228148, NN0246378, NN0224041, NN0227587, NN5096749, NN0224856, NN0223160, NN0223809, NN0226631, NN0227981, NN0247786, NN0246425, NN0224495, NN0225088, NN0227071, NN0223782, NN0228579, NN0247342, 및 NN0247731로 이루어지는 군 중에서 선택되는 것인 방법.

청구항 20

제19항에 있어서, 유전자 마커가 마커 NN0223782, NN0225385, NN0226670, NN0224124, NN0246472, NN0225358, NN0227700, NN0224617, NN0247695, NN0227242, NN0223824, NN0223181, NN0226638, 및 NN0246378로 이루어지는

군 중에서 선택되는 것인 방법.

청구항 21

제19항에 있어서, 유전자 마커가 마커 NN0225012, NN0228579, NN0226451, NN0225088, NN0226219, NN0247551, NN0246357, NN0225551, NN0226732, NN0247689, NN0247342, NN0224702, NN0225482, NN0224538, NN0247543, NN0224041, NN0228853, NN0227762, NN0227587, NN0224041, NN0227587, NN0246425, NN0224495, NN0225088, NN0228579, 및 NN0247342로 이루어지는 군 중에서 선택되는 것인 방법.

청구항 22

제19항에 있어서, 유전자 마커가 마커 NN0228457, NN0246356, NN0246332, NN0223399, NN0223689, NN0247731, NN0226166, NN0225480, NN0246411, NN0227759, NN0247348, NN0228465, NN0247786, NN0226645, NN0223809, NN0227071, NN0226870, NN0228148, NN5096749, NN0224856, NN0223160, NN0223809, NN0226631, NN0227981, NN0247786, NN0227071, 및 NN0247731로 이루어지는 군 중에서 선택되는 것인 방법.

청구항 23

제14항에 있어서, 오이 식물을 검정하는 단계가 PCR, 단일가닥 입체형태적 다형성 분석, 변성 구배 겔 전기영동, 절단 단편 길이 다형성 분석, TAQMAN 검정, 및/또는 DNA 서열분석을 포함하는 것인 방법.

청구항 24

제14항에 있어서, 유전자 마커가 노균병에 대한 저항성을 부여하는 QTL의 20 cM, 10 cM 또는 1 cM 내에 위치하는 것인 방법.

청구항 25

제14항에 있어서, 유전자 마커가 NN0226631 또는 NN0246425인 방법.

청구항 26

제14항에 있어서, 노균병에 대한 저항성을 부여하는 적어도 하나의 대립유전자를 포함하는 오이 식물이 비-저항성 대조 오이 식물주에 비해 황백화 및/또는 괴저성 병변의 잎 증상의 적어도 25%, 또는 이보다 큰 감소를 보이는 것인 방법.

청구항 27

노균병에 대한 저항성을 부여하고 오이 염색체 2, 4, 또는 5 상에 위치하는 서열을 포함하는 QTL의 40 cM 내에 위치하는 오이 식물 게놈 영역에 5 X SSC, 50% 포름아미드, 및 42°C의 조건 하에 혼성화하고, 서열 20-87로 이루어지는 군 중에서 선택되는 핵산 서열을 포함하는 단리된 핵산 프로브 또는 프라이머.

청구항 28

제14항에 따른 방법에 의해 생산된, 상기 유전자 마커 및 노균병에 대한 저항성을 부여하는 QTL을 포함하는 오이 식물 또는 그의 자손체 식물.

청구항 29

화분, 배주, 잎, 배아, 뿌리, 근단, 꽃밥, 꽃, 열매, 줄기, 순, 종자, 원형질체, 세포, 및 캘러스로서 추가로 규정되는 제28항에 따른 오이 식물의 일부.

청구항 30

제28항에 따른 식물을 생산하는 종자.

청구항 31

슈도페로노스포라 쿠벤시스(*Pseudoperonospora cubensis*)에 대한 저항성을 부여하는 적어도 제1 유전자인입된 오이 염색체 영역을 포함하고, 여기서 영역은 염색체 2에서 발견되는 노균병 저항성 기여 QTL 영역, 염색체 4에

서 발견되는 노균병 저항성 기여 QTL 영역, 및 염색체 5에서 발견되는 노균병 저항성 기여 QTL 영역으로 이루어지는 군 중에서 선택되고; 추가로 QTL이 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 25.2 cM 및 82.7 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0228457 및 SNP 마커 NN0228148로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; QTL이 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 20.6 cM 및 87.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0225012 및 SNP 마커 NN0227587로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; 또는 QTL이 오이 염색체 2로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 14.6 cM 및 66.5 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0246378 및 SNP 마커 NN0247695로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하는 것인 오이 식물.

청구항 32

제31항에 있어서, QTL이 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 35.7 cM 및 55.5 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0227981 및 SNP 마커 NN0226631로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; 또는 QTL이 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 35.7 cM 및 71.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0227981 및 SNP 마커 NN0247786으로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하는 것인 오이 식물.

청구항 33

제31항에 있어서, QTL이 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 25.8 cM 및 82.0 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0228579 및 SNP 마커 NN0224495로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; QTL이 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 30.4 cM 및 75.8 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0225088 및 SNP 마커 NN0224041로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; 또는 QTL이 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 54.5 cM 및 82.0 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0228579 및 SNP 마커 NN0224495로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하는 것인 오이 식물.

청구항 34

제31항에 있어서, QTL이 오이 염색체 2로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 14.6 cM 및 38.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0246378 및 SNP 마커 NN0246472로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하는 것인 오이 식물.

청구항 35

제31항에 있어서, 상기 군으로부터 선택되는 적어도 2개의 유전자이입된 오이 염색체 영역을 포함하는 오이 식물.

청구항 36

제31항에 있어서, 슈도페로노스포라 쿠벤시스에 대한 저항성을 부여하는 제1 유전자이입된 오이 염색체 영역이 PI197088에 존재하는 대립유전자를 포함하는 것인 오이 식물.

청구항 37

제36항에 있어서, 염색체 2 상에서 발견되는 QTL 영역을 포함하고, 여기서 QTL이 PI197088로부터 유전자이입된 것인 오이 식물.

청구항 38

제36항에 있어서, 마커 NN0246378, NN0223782, NN0246472, 및 NN0247695 중의 하나 이상에서 PI197088로부터의 대립유전자를 포함하는 것으로서 추가로 규정되는 것인 방법.

청구항 39

제38항에 있어서, PI197088에 존재하지 않는 적어도 제1 대립유전자를 포함하는 것으로서 추가로 규정되고, 여기서 대립유전자가 NN0247695, NN0246472, NN0223782, 및 NN0246378을 포함하는 마커의 군을 사용하여 검출되는 것인 오이 식물.

청구항 40

제36항에 있어서, 염색체 4에서 발견되는 노균병 저항성 기여 QTL 영역을 포함하고, 여기서 QTL이 PI197088로부

터 유전자이입된 것인 오이 식물.

청구항 41

제40항에 있어서,

- a) NN0228579, NN0225088, NN0225551, NN0247342, NN0246425, NN0224041, NN0224495, 및 NN0227587로 이루어지는 군 중에서 선택되는 하나 이상의 마커에서 PI197088로부터의 대립유전자;
- b) NN0228579, NN0225088, NN0225551, NN0247342, NN0246425, NN0224041, NN0224495, 및 NN0227587로 이루어지는 군 중에서 선택되는 적어도 하나의 마커에서 PI197088에 존재하지 않는 대립유전자;
- c) 마커 NN0246425에서 PI197088로부터의 대립유전자, 마커 NN0247342에서 PI197088에 존재하지 않는 대립유전자 및 마커 NN0224495에서 PI197088에 존재하지 않는 대립유전자;
- d) 마커 NN0246425에서 PI197088로부터의 대립유전자, 마커 NN0225088에서 PI197088에 존재하지 않는 대립유전자 및 마커 NN0224495에서 PI197088에 존재하지 않는 대립유전자; 또는
- e) 마커 NN0246425에서 PI197088로부터의 대립유전자, 마커 NN0228579에서 PI197088에 존재하지 않는 대립유전자, 및 마커 NN0224495에서 PI197088에 존재하지 않는 대립유전자를 포함하는 것으로서 추가로 규정되는 오이 식물.

청구항 42

제36항에 있어서, 염색체 5 상에서 발견되는 QTL 영역을 포함하고, 여기서 QTL 영역이 PI197088로부터 유전자이입된 것인 오이 식물.

청구항 43

제42항에 있어서,

- a) NN5096749, NN0224856, NN0227981, NN0247731, NN0226631, NN0247786, NN0223160, NN0223809, NN0227071, 및 NN0228148로 이루어지는 군 중에서 선택되는 하나 이상의 마커에서 PI197088로부터의 대립유전자;
- b) NN0228148, NN0227071, NN0223809, NN0223160, NN0247786, NN0226631, NN0247731, NN0227981, NN0224856, 및 NN5096749로 이루어지는 군 중에서 선택되는 적어도 하나의 마커에서 PI197088에 존재하지 않는 대립유전자;
- c) 마커 NN0226631에서 PI197088로부터의 대립유전자, 마커 NN0227981에서 PI197088에 존재하지 않는 대립유전자, 및 마커 NN0247786에서 PI197088에 존재하지 않는 대립유전자;
- d) 마커 NN0226631에서 PI197088로부터의 대립유전자, 마커 NN0227981에서 PI197088에 존재하지 않는 대립유전자, 및 마커 NN0227071에서 PI197088에 존재하지 않는 대립유전자; 또는
- e) 마커 NN0226631에서 PI197088로부터의 대립유전자, 마커 NN0224856에서 PI197088에 존재하지 않는 대립유전자, 및 마커 NN0227071에서 PI197088에 존재하지 않는 대립유전자를 포함하는 것으로서 추가로 규정되는 오이 식물.

청구항 44

제31항에 있어서, 작물학상 최상급 식물로서 추가로 규정되는 오이 식물.

청구항 45

제31항에 있어서, 슈도페로노스포라 쿠벤시스에 대한 저항성을 부여하는 2개의 유전자이입된 오이 염색체 영역을 포함하고, 여기서 영역이 염색체 4에서 발견되는 노균병 저항성 기여 QTL 영역, 및 염색체 5에서 발견되는 노균병 저항성 기여 QTL 영역을 포함하는 것인 오이 식물.

청구항 46

제31항에 있어서, 식물이 상기 염색체 영역에 대해 동형접합성인 오이 식물.

명세서

기술분야

[0001] 발명의 배경

[0002] 본원은 2009년 10월 22일 출원된, 그 전체 개시내용이 본원에 참고로 포함된 미국 가출원 일련 번호 61/254,141에 대한 우선권을 주장한다.

[0003] 서열 목록의 포함

[0004] 2010년 10월 21일 생성된 30,174 바이트 (MS-WINDOWS에서 측정됨)의 "SEMS108US_ST25.txt"로 명명된 파일에 포함된 서열 목록은 전자 파일 형태로 본원과 함께 제출되고, 본원에 참고로 포함된다.

[0005] 기술분야

[0006] 본 발명은 노균병 (Downy Mildew) 저항성을 갖는 오이 식물의 확인 및 육종을 위한 방법 및 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0007] 오이 (쿠쿠미스 사티부스 엘. (*Cucumis sativus* L.))는 수천년 동안 재배되어 왔고 전세계에서 재배되는 인기있는 식물 작물이다. 오이 식물은 광범위한 기후에서 노지 및 온실에서 재배된다. 현재 상업적으로 재배되는 2 종류의 주요 오이 열매는 신선식품 시판용 (슬라이스용) 및 가공용 (피클용)이다.

[0008] 노균병 (DM)은 진균 슈도페로노스포라 쿠벤시스 (*Pseudoperonospora cubensis*) (*P.c.*)에 의해 유발되고, 오이를 포함하여 많은 박과 (Cucurbit) 중에서 유의한 작물 손실을 야기한다. 이 질병은 전세계에서 발견되고, 습도, 온도 조건에 영향받는다. 이 질병은 온실에서 성장한 식물, 및 노지에서 성장한 식물에서 발생한다. DM은 박과의 가장 중요한 잎 질병 중의 하나이고, 과실 수량 및 품질을 저하시킬 수 있고, 감수성 모종을 사멸시킬 수 있다.

[0009] DM 감염의 증상은 일정하지 않다. 초기 증상은 잎의 윗면의 선명한 불규칙적인 황색 병변을 포함하고, 이것은 궁극적으로 잎의 양면을 보다 구별되도록 만든다. 잎의 밑면은 특히 습한 조건 하에서 회백색, 갈색, 또는 담청색 성장체를 보일 수 있다. 상기 노균병 성장체는 병변의 보다 낮은 표면 상에 생성되는 포자이다. 침범된 잎의 황변은 일반적으로 병변이 하나의 큰 병변으로 합쳐질 때 발생하고, 궁극적으로 잎이 시들어 죽게 만든다. 이 질병은 매우 신속하게 진행되고, 잎을 수일 내에 사멸시키고 불량한 과실 생산 및 품질을 야기한다. 오이 열매는 직접 침범되지 않지만, 큰 낙엽화는 열매를 별테임 (sunscauld)에 노출시킨다. 일단 작물에 나타난 후에는, DM은 바람, 또는 떨어지는 빗물 및/또는 관류수에 의해 신속하게 퍼진다. 질병의 제어 및 억제는 감염된 모종으로부터 모든 식물의 파괴 및 시설의 소독을 필요로 한다. 또한, DM의 새로운 단리물의 출현은 이전에 알려진 몇몇 저항성 식물주도 침범하였다. 따라서, DM에 대한 저항성을 갖는 새로운 오이 변종, 상기 식물의 생산 방법에 대한 필요성이 존재한다.

발명의 내용

[0010] 발명의 개요

[0011] 제1 측면에서, 본 발명은 a) 노균병에 대한 저항성을 부여하는 QTL에 유전적으로 연관된 적어도 제1 유전자 마커의 존재에 대해 오이 식물을 검정하는 단계; 및 b) 상기 유전자 마커 및 노균병에 대한 저항성을 부여하는 QTL을 포함하는 적어도 제1 오이 식물을 선택하는 단계를 포함하며; 여기서 QTL이 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 25.2 cM 및 82.7 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0228457 및 SNP 마커 NN0228148로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; QTL이 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 20.6 cM 및 87.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0225012 및 SNP 마커 NN0227587로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; 또는 QTL이 오이 염색체 2로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 22.5 cM 및 88.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0223782 및 SNP 마커 NN0226638로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하는 것인, 오이 생식질 (germplasm)을 얻는 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, 노균병에 대한 저항성을 부여하는 QTL 대립유전자는 오이 식물주 PI197088, 또는 그의 자손체 식물로부터 유래된다.

[0012] 특정 실시양태에서, QTL은 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 35.7 cM 및 55.5 cM에 위치하

는 SNP 마커 NN0227981 및 SNP 마커 NN0226631로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; 또는 QTL은 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 35.7 cM 및 71.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0227981 및 SNP 마커 NN0247786으로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치한다. 다른 실시양태에서, QTL은 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 25.8 cM 및 82.0 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0228579 및 SNP 마커 NN0224495로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; QTL은 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 30.4 cM 및 75.8 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0225088 및 SNP 마커 NN0224041로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; 또는 QTL은 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 54.5 cM 및 82.0 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0228579 및 SNP 마커 NN0224495로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치한다. 또 다른 실시양태에서, QTL은 오이 염색체 2로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 14.6 cM 및 38.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0246378 및 SNP 마커 NN0246472로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치한다.

[0013] 특정 실시양태에서, 본 발명은 또한 제1 오이 식물을 선택하는 단계가 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 25.2 cM 및 82.7 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0228457 및 SNP 마커 NN0228148로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하는 다수의 유전자 마커의 존재를 기초로 하여 식물을 선택하는 것을 추가로 포함하거나; 또는 QTL이 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 35.7 cM 및 55.5 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0227981 및 SNP 마커 NN0226631로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; 또는 QTL이 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 35.7 cM 및 71.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0227981 및 SNP 마커 NN0247786으로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; 또는 QTL이 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 20.6 cM 및 87.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0225012 및 SNP 마커 NN0227587로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; 또는 QTL이 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 54.5 cM 및 82.0 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0247342 및 SNP 마커 NN0224495로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; 또는 QTL이 오이 염색체 2로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 22.5 cM 및 88.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0223782 및 SNP 마커 NN0226638로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하는 것인 상기 방법을 제공한다.

[0014] 특정 실시양태에서, 유전자 마커는 서열 20-87 중의 하나의 단일 뉴클레오타이드 다형성을 포함하는 마커 NN0223782, NN0225385, NN0226670, NN0224124, NN0246472, NN0225358, NN0227700, NN0224617, NN0247695, NN0227242, NN0223824, NN0223181, NN0226638, NN0225012, NN0228579, NN0226451, NN0225088, NN0226219, NN0247551, NN0246357, NN0225551, NN0226732, NN0247689, NN0247342, NN0224702, NN0225482, NN0224538, NN0247543, NN0224041, NN0228853, NN0227762, NN0227587, NN0228457, NN0246356, NN0246332, NN0223399, NN0223689, NN0247731, NN0226166, NN0225480, NN0246411, NN0227759, NN0247348, NN0228465, NN0247786, NN0226645, NN0223809, NN0227071, NN0226870, NN0228148, NN0246378, NN0224041, NN0227587, NN5096749, NN0224856, NN0223160, NN0223809, NN0226631, NN0227981, NN0247786, NN0246425, NN0224495, NN0225088, NN0227071, NN0223782, NN0228579, NN0247342, 및 NN0247731로 이루어지는 군 중에서 선택된다. 특정 실시양태에서, 유전자 마커는 마커 NN0223782, NN0225385, NN0226670, NN0224124, NN0246472, NN0225358, NN0227700, NN0224617, NN0247695, NN0227242, NN0223824, NN0223181, NN0226638, 및 NN0246378로 이루어지는 군 중에서 선택된다. 또 다른 실시양태에서, 유전자 마커는 마커 NN0225012, NN0228579, NN0226451, NN0225088, NN0226219, NN0247551, NN0246357, NN0225551, NN0226732, NN0247689, NN0247342, NN0224702, NN0225482, NN0224538, NN0247543, NN0224041, NN0228853, NN0227762, NN0227587, NN0224041, NN0227587, NN0246425, NN0224495, NN0225088, NN0228579, 및 NN0247342로 이루어지는 군 중에서 선택된다. 또 다른 실시양태에서, 유전자 마커는 마커 NN0228457, NN0246356, NN0246332, NN0223399, NN0223689, NN0247731, NN0226166, NN0225480, NN0246411, NN0227759, NN0247348, NN0228465, NN0247786, NN0226645, NN0223809, NN0227071, NN0226870, NN0228148, NN5096749, NN0224856, NN0223160, NN0223809, NN0226631, NN0227981, NN0247786, NN0227071, 및 NN0247731로 이루어지는 군 중에서 선택된다. 특정 실시양태에서, 유전자 마커는 NN0226631 또는 NN0246425이다. 또한, 상기 실시양태에서, 오이 식물을 검정하는 단계는 PCR, 단일가닥 입체형대적 다형성 분석, 변성 구배 겔 전기영동, 절단 단편 길이 다형성 분석, TAQMAN 검정, 및/또는 DNA 서열분석을 포함한다.

[0015] 또한, 특정 실시양태에서, 유전자 마커는 노균병에 대한 저항성을 부여하는 QTL의 20 cM, 10 cM 또는 1 cM 내에 위치할 수 있다.

[0016] 다른 측면에서, 본 발명은 a) 노균병에 대한 저항성을 부여하는 QTL에 유전적으로 연관된 적어도 제1 유전자 마커의 존재에 대해 오이 식물을 검정하는 단계; b) 상기 유전자 마커 및 노균병에 대한 저항성을 부여하는 QTL을 포함하는 적어도 제1 오이 식물을 선택하는 단계; 및 c) 제1 오이 식물을 그 자체 또는 제2 오이 식물과 교배하여 노균병에 대한 저항성을 부여하는 QTL을 포함하는 자손체 오이 식물을 생산하는 단계를 포함하고; 여기서

QTL이 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 25.2 cM 및 82.7 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0228457 및 SNP 마커 NN0228148로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; QTL이 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 35.7 cM 및 55.5 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0227981 및 SNP 마커 NN0226631로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; QTL이 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 35.7 cM 및 71.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0227981 및 SNP 마커 NN0247786으로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; QTL이 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 20.6 cM 및 87.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0225012 및 SNP 마커 NN0227587로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; QTL이 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 54.5 cM 및 82.0 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0247342 및 SNP 마커 NN0224495로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; 또는 QTL이 오이 염색체 2로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 22.5 cM 및 88.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0223782 및 SNP 마커 NN0226638로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하는 것인, 오이 식물 육종 방법을 제공한다.

[0017] 상기 방법의 하나의 실시양태에서, 적어도 제1 오이 식물을 선택하는 단계는 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 25.2 cM 및 82.7 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0228457 및 SNP 마커 NN0228148로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하는 다수의 유전자 마커의 존재를 기초로 하여 식물을 선택하는 것을 추가로 포함하고; 여기서 QTL은 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 35.7 cM 및 55.5 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0227981 및 SNP 마커 NN0226631로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; QTL은 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 35.7 cM 및 71.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0227981 및 SNP 마커 NN0247786으로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; QTL은 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 20.6 cM 및 87.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0225012 및 SNP 마커 NN0227587로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; QTL은 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 54.5 cM 및 82.0 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0247342 및 SNP 마커 NN0224495로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; 또는 QTL은 오이 염색체 2로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 22.5 cM 및 88.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0223782 및 SNP 마커 NN0226638로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치한다. 상기 방법의 또 다른 실시양태에서, 이것은 d) 노균병에 대한 저항성을 부여하는 대립유전자를 포함하는 자손체 식물을 선택하고, 자손체 식물을 그 자체 또는 제3 오이 식물과 교배하여 추가의 자손체 식물을 생산하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 상기 방법은 단계 (d)를 약 2-10회 반복하는 단계를 추가로 포함한다. 마찬가지로, 특정 실시양태에서, 노균병에 대한 저항성을 부여하는 대립유전자는 오이 식물주 PI197088, 또는 그의 자손체 식물로부터 유래된다.

[0018] 특정 실시양태에서, 유전자 마커는 노균병에 대한 저항성을 부여하는 QTL의 20 cM, 10 cM 또는 1 cM 내에 위치한다. 일부 실시양태에서, 유전자 마커는 서열 20-87 중의 하나의 단일 뉴클레오타이드 다형성을 포함하는, 마커 NN0223782, NN0225385, NN0226670, NN0224124, NN0246472, NN0225358, NN0227700, NN0224617, NN0247695, NN0227242, NN0223824, NN0223181, NN0226638, NN0225012, NN0228579, NN0226451, NN0225088, NN0226219, NN0247551, NN0246357, NN0225551, NN0226732, NN0247689, NN0247342, NN0224702, NN0225482, NN0224538, NN0247543, NN0224041, NN0228853, NN0227762, NN0227587, NN0228457, NN0246356, NN0246332, NN0223399, NN0223689, NN0247731, NN0226166, NN0225480, NN0246411, NN0227759, NN0247348, NN0228465, NN0247786, NN0226645, NN0223809, NN0227071, NN0226870, NN0228148, NN0246378, NN0224041, NN0227587, NN0246425, NN0224856, NN0223160, NN0223809, NN0226631, NN0227981, NN0247786, NN0246425, NN0224495, NN0225088, NN0227071, NN0223782, NN0228579, NN0247342, 및 NN0247731로 이루어지는 군 중에서 선택된다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 유전자 마커는 마커 NN0223782, NN0225385, NN0226670, NN0224124, NN0246472, NN0225358, NN0227700, NN0224617, NN0247695, NN0227242, NN0223824, NN0223181, NN0226638, 및 NN0246378로 이루어지는 군 중에서 선택된다. 다른 실시양태에서, 유전자 마커는 마커 NN0225012, NN0228579, NN0226451, NN0225088, NN0226219, NN0247551, NN0246357, NN0225551, NN0226732, NN0247689, NN0247342, NN0224702, NN0225482, NN0224538, NN0247543, NN0224041, NN0228853, NN0227762, NN0227587, NN0224041, NN0227587, NN0246425, NN0224495, NN0225088, NN0228579, 및 NN0247342로 이루어지는 군 중에서 선택된다. 또 다른 실시양태에서, 유전자 마커는 마커 NN0228457, NN0246356, NN0246332, NN0223399, NN0223689, NN0247731, NN0226166, NN0225480, NN0246411, NN0227759, NN0247348, NN0228465, NN0247786, NN0226645, NN0223809, NN0227071, NN0226870, NN0228148, NN0246378, NN0224856, NN0223160, NN0223809, NN0226631, NN0227981, NN0247786, NN0227071, 및 NN0247731로 이루어지는 군 중에서 선택된다. 특정 실시양태에서, 유전자 마커는 NN0226631 또는 NN0246425이다. 그러한 실시양태에서, 오이 식물을 검정하는 단계는 PCR, 단일가닥 입체형태적 다형성 분석, 변성 구배 겔 전기영동, 절단 단편 길이 다형성 분석, TAQMAN 검정, 및/또는 DNA 서열분석을 포함할 수 있다.

- [0019] 일부 실시양태에서, 노균병에 대한 저항성을 부여하는 적어도 하나의 대립유전자를 포함하는 오이 식물은 비-저항성 대조 오이 식물주에 비해 황백화 및/또는 괴저성 병변의 잎 증상의 적어도 25%, 또는 이보다 큰 감소를 보인다.
- [0020] 또 다른 측면에서, 본 발명은 노균병에 대한 저항성을 부여하고 오이 염색체 2, 4, 또는 5 상에 위치하는 서열을 포함하는 QTL의 40 cM 내에 위치하는 오이 식물 게놈 영역에 5 X SSC, 50% 포름아미드, 및 42°C의 조건 하에 혼성화하고, 서열 20-87로 이루어지는 군 중에서 선택되는 핵산 서열을 포함하는 단리된 핵산 프로브 또는 프라이머를 제공한다.
- [0021] 또 다른 측면에서, a) 노균병에 대한 저항성을 부여하는 QTL에 유전적으로 연관된 적어도 제1 유전자 마커의 존재에 대해 오이 식물을 검정하는 단계; b) 상기 유전자 마커 및 노균병에 대한 저항성을 부여하는 QTL을 포함하는 적어도 제1 오이 식물을 선택하는 단계; 및 c) 제1 오이 식물을 그 자체 또는 제2 오이 식물과 교배하여 노균병에 대한 저항성을 부여하는 QTL을 포함하는 자손체 오이 식물을 생산하는 단계로 이루어진 방법에 의해 생산되고; 여기서 QTL이 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 25.2 cM 및 82.7 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0228457 및 SNP 마커 NN0228148로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; QTL이 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 35.7 cM 및 55.5 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0227981 및 SNP 마커 NN0226631로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; QTL이 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 35.7 cM 및 71.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0227981 및 SNP 마커 NN0247786으로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; QTL이 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 20.6 cM 및 87.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0225012 및 SNP 마커 NN0227587로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; QTL이 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 54.5 cM 및 82.0 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0247342 및 SNP 마커 NN0224495로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; 또는 QTL이 오이 염색체 2로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 22.5 cM 및 88.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0223782 및 SNP 마커 NN0226638로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하는 것인, 오이 식물이 제공된다. 또한, 상기 유전자 마커 및 노균병에 대한 저항성을 부여하는 QTL을 포함하는 그의 자손체 식물이 제공된다. 본 발명은 또한 추가의 실시양태에서 슈도페로노스포라 쿠벤시스에 대한 저항성을 부여하는 2개의 유전자이입된 (introgressed) 오이 염색체 영역을 포함하는 상기와 같은 오이 식물을 제공하고, 여기서 영역은 염색체 4에서 발견되는 노균병 저항성 기여 QTL 영역 및 염색체 5에서 발견되는 노균병 저항성 기여 QTL 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 오이 식물은 상기 염색체 영역 또는 영역들에 대해 동형접합성이다.
- [0022] 특정 실시양태에서, 오이 식물, 또는 그의 자손체 식물은 작물학상 최상급 (elite) 식물로서 추가로 규정된다. 또한, 특정 실시양태에서, 화분, 배주, 잎, 배아, 뿌리, 근단, 꽃밥, 꽃, 열매, 줄기, 순, 종자, 원형질체, 세포, 및 캘러스로서 추가로 규정되는, 상기와 같은 오이 식물 또는 그의 자손체의 일부가 제공된다. 또 다른 실시양태는 상기와 같은 식물을 생산하는 종자를 제공한다.
- [0023] 특정 실시양태는 슈도페로노스포라 쿠벤시스에 대한 저항성을 부여하는 적어도 제1 유전자이입된 오이 염색체 영역을 포함하고, 여기서 영역이 염색체 2에서 발견되는 노균병 저항성 기여 QTL 영역, 염색체 4에서 발견되는 노균병 저항성 기여 QTL 영역, 및 염색체 5에서 발견되는 노균병 저항성 기여 QTL 영역으로 이루어지는 군 중에서 선택되고; 추가로 QTL이 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 25.2 cM 및 82.7 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0228457 및 SNP 마커 NN0228148로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; QTL이 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 20.6 cM 및 87.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0225012 및 SNP 마커 NN0227587로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; 또는 QTL이 오이 염색체 2로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 14.6 cM 및 66.5 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0246378 및 SNP 마커 NN0247695로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하는 것인, 오이 식물을 제공한다. 특정 실시양태는 QTL이 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 35.7 cM 및 55.5 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0227981 및 SNP 마커 NN0226631로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; 또는 QTL이 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 35.7 cM 및 71.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0227981 및 SNP 마커 NN0247786으로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하는 오이 식물을 제공한다. 추가의 실시양태에서, 본 발명은 상기 군으로 선택되는 적어도 2개의 유전자이입된 오이 염색체 영역을 포함하는 오이 식물을 제공한다.
- [0024] 일부 실시양태에서, 오이 식물의 QTL은 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 25.8 cM 및 82.0 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0228579 및 SNP 마커 NN0224495로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; QTL은 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 30.4 cM 및 75.8 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0225088 및 SNP 마커 NN0224041로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하거나; 또는 QTL은 오이 염색체 4로 불리는 연관군의

유전자 지도 상의 약 54.5 cM 및 82.0 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0228579 및 SNP 마커 NN0224495로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치한다. 다른 실시양태에서, QTL은 오이 염색체 2로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 14.6 cM 및 38.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0246378 및 SNP 마커 NN0246472로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치한다.

[0025] 또한, 슈도페로노스포라 쿠벤시스에 대한 저항성을 부여하는 제1 유전자이입된 오이 염색체 영역이 PI197088에 존재하는 대립유전자를 포함하는 오이 식물이 제공된다. 특정 실시양태에서, 오이 식물은 염색체 2 상에서 발견되는 QTL 영역을 포함하고, 여기서 QTL은 오이 염색체 2로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 14.6 cM 및 66.5 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0246378 및 SNP 마커 NN0247695로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하고, QTL은 PI197088로부터 유전자이입된 것이다. 오이 식물은 마커 NN0246378, NN0223782, NN0246472, 및 NN0247695 중의 하나 이상에서 PI197088로부터의 대립유전자를 포함하는 것으로서 추가로 규정될 수 있다. 특정 실시양태에서, 오이 식물은 PI197088에 존재하지 않는 적어도 제1 대립유전자를 포함하는 것으로서 추가로 규정되고, 여기서 대립유전자는 NN0247695, NN0246472, NN0223782, 및 NN0246378을 포함하는 마커의 군으로 검출된다.

[0026] 본 발명의 다른 실시양태에서, 오이 식물은 염색체 4에서 발견되는 노균병 저항성 기여 QTL 영역을 포함하고, 여기서 QTL은 오이 염색체 4로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 20.6 cM 및 87.4 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0225012 및 SNP 마커 NN0227587로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치한다. 특정 실시양태에서, DM 저항성 QTL은 PI197088로부터 유전자이입된 것이다. 특정 실시양태에서, 오이 식물은 다음을 포함하는 것으로서 추가로 규정될 수 있다: a) NN0228579, NN0225088, NN0225551, NN0247342, NN0246425, NN0224041, NN0224495, 및 NN0227587로 이루어지는 군 중에서 선택되는 하나 이상의 마커에서 PI197088로부터의 대립유전자; b) NN0228579, NN0225088, NN0225551, NN0247342, NN0246425, NN0224041, NN0224495, 및 NN0227587로 이루어지는 군 중에서 선택되는 적어도 하나의 마커에서 PI197088에 존재하지 않는 대립유전자; c) 마커 NN0246425에서 PI197088로부터의 대립유전자, 마커 NN0247342에서 PI197088에 존재하지 않는 대립유전자 및 마커 NN0224495에서 PI197088에 존재하지 않는 대립유전자; d) 마커 NN0246425에서 PI197088로부터의 대립유전자, 마커 NN0225088에서 PI197088에 존재하지 않는 대립유전자 및 마커 NN0224495에서 PI197088에 존재하지 않는 대립유전자; 또는 e) 마커 NN0246425에서 PI197088로부터의 대립유전자, 마커 NN0228579에서 PI197088에 존재하지 않는 대립유전자, 및 마커 NN0224495에서 PI197088에 존재하지 않는 대립유전자.

[0027] 다른 실시양태에서, 염색체 5 상에서 발견되는 QTL 영역을 포함하고, 여기서 QTL이 오이 염색체 5로 불리는 연관군의 유전자 지도 상의 약 25.2 cM 및 82.7 cM에 위치하는 SNP 마커 NN0228457 및 SNP 마커 NN0228148로 표시되는 서열 사이의 위치에 위치하는 특허청구범위 제36항의 오이 식물이 제공된다. 특정 실시양태에서, QTL 영역은 PI197088로부터 유전자이입된 것이다. 특정 실시양태에서, 오이 식물은 다음을 포함하는 것으로서 추가로 규정될 수 있다: a) NN5096749, NN0224856, NN0227981, NN0247731, NN0226631, NN0247786, NN0223160, NN0223809, NN0227071, 및 NN0228148로 이루어지는 군 중에서 선택되는 하나 이상의 마커에서 PI197088로부터의 대립유전자; b) NN0228148, NN0227071, NN0223809, NN0223160, NN0247786, NN0226631, NN0247731, NN0227981, NN0224856, 및 NN5096749로 이루어지는 군 중에서 선택되는 적어도 하나의 마커에서 PI197088에 존재하지 않는 대립유전자; c) 마커 NN0226631에서 PI197088로부터의 대립유전자, 마커 NN0227981에서 PI197088에 존재하지 않는 대립유전자, 및 마커 NN0247786에서 PI197088에 존재하지 않는 대립유전자; d) 마커 NN0226631에서 PI197088로부터의 대립유전자, 마커 NN0227981에서 PI197088에 존재하지 않는 대립유전자, 및 마커 NN0227071에서 PI197088에 존재하지 않는 대립유전자; 또는 e) 마커 NN0226631에서 PI197088로부터의 대립유전자, 마커 NN0224856에서 PI197088에 존재하지 않는 대립유전자, 및 마커 NN0227071에서 PI197088에 존재하지 않는 대립유전자.

도면의 간단한 설명

[0028] 도 1은 유전자 지도 (좌측) 및 오이 L088 (루신데 (Lucinde) x PI197088) 집단으로부터의 148개 F3 패밀리어서 노균병 반응에 대한 마커 효과에 대한 LOD 그래프 (우측)를 도시한 것이다. 유전자 지도와 LOD 그래프 사이의 선은 지도 위치 및 LOD 점수의 비교를 돕기 위한 3개의 마커에 대한 참조 위치를 제공한다. 상기 연관군은 예를 들어 문헌 [Ren et al., 2009 (PLoS ONE 4:e5795, 2009; doi: 10.1371/journal.pone.0005795)]에 기재된 바와 같은 염색체 5에 대응한다. 오이의 다른 예시적인 유전자 지도는 예를 들어 문헌 [Staub, et al., 2007 (HortScience, 40:20-27)], 및 [Meboah et al., 2007 (Afr. J. Biotechnol. 6:2784-2791)]에 제시되어 있다.

도 2는 DM 저항성과 마커 위치 사이의 상관관계를 보여주는, 확인된 노균병 저항성 기여 QTL 영역 내의 추가의 특정 마커에 대한 노균병 저항성 데이터를 도시한 것이다.

도 3은 (A) PI 197088; (B) 재배종 아데렘 (Adefem); 및 (C) 재배종 마람 (Maram)에 대한 전형적인 질병 반응을 도시한 것이다.

도 4는 실시예 6에 약술한 질병 등급 기준을 나타내는 성숙 잎에 대한 전형적인 질병 반응을 도시하고, 여기서 "1"은 가장 저항성을 갖는 것이고, "9"는 가장 감수성인 것이다.

도 5는 수많은 SNP 마커 ("NN0...") 및 이전에 이용된 RAPD 또는 CAPS 마커, 예를 들어 CAPS_ENK59와 함께 오이 염색체 5, 4, 및 2의 유전자 지도를 도시한 것이다. 각각의 도식적인 염색체의 좌측 상의 숫자는 지도의 "상부"로부터의 유전자 거리 (cM)를 나타낸다. 마커 위치는 각각의 도면의 우측에 제시된다. 지정된 마커 우측의 진한 양방향 화살표는 QTL 1, 2, 및 4의 대략적인 위치를 나타낸다. (A) API 맵핑 (mapping) 집단으로부터의 염색체 5; (B) VJ 맵핑 집단으로부터의 염색체 5; (C) API 맵핑 집단으로부터의 염색체 4; (D) VJ 맵핑 집단으로부터의 염색체 4; (E) API 맵핑 집단으로부터의 염색체 2; (F) VJ 맵핑 집단으로부터의 염색체 2.

도 6. QIR 맵핑 집단의 F4 및 F5 세대에서 분석된 염색체 2, 4, 및 5의 QTL에 대한 간격 맵핑 및 LOD 점수. QIR 맵핑 집단의 F4 (실선) 및 F5 (점선) 세대로부터 수집한 표현형에 대한 단일-QTL 맵핑 분석으로부터의 LOD 점수가 제시된다. 2개의 수평선은 2개의 데이터세트에 대해 1,000회의 순열로부터의 $\alpha=0.05$ 순열 역치를 나타낸다. "Chr"은 염색체를 나타낸다.

도 7. 상응하는 QTL에서의 유전자형에 대한, QIR 맵핑 집단에서 F4 및 F5 노균병 병원성 시험 점수 평균의 그래프. F4 데이터로부터 확인된 QTL은 Chr5:55.5cM에 위치하였고, F5 데이터로부터 확인된 QTL은 Chr4:69.8cM에 위치하였다. 오류 막대는 ± 1 표준오차에 상응한다.

도 8. QIR 집단에서 노균병 저항성에 대한 2개의 QTL 사이의 상호작용 그래프. 각각의 그래프에서, x-축 상의 3개의 유전자형은 상응하는 데이터세트를 사용하여 확인된 QTL에 상응한다. 교대하는 (alternate) QTL의 3개의 유전자형 (AA, AB, 및 BB)은 각각 실선, 파선, 또는 점선으로 표시된다. 오류 막대는 ± 1 표준오차에 상응한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0029] 발명의 상세한 설명

[0030] 본 발명은 슈도페로노스포라 쿠벤시스에 의해 야기되는 노균병 (DM)에 대한 저항성을 갖는 오이 식물 (쿠쿠미스 사티부스)을 확인하는 방법을 제공한다. 상기 오이 식물주는 DM 저항성 오이 변종으로서 언급될 수 있다. DM 저항성 오이 식물주의 육종 방법이 추가로 제공된다. 또한, 본원에서 DM 저항성에 기여하는 정량적 형질 좌위에 연관된 분자 마커가 개시된다. 마커의 사용을 통해, 당업자는 오이에서 DM 저항성 정도를 증가시키고 DM 저항성에 대한 증가된 성향에 대해 식물을 선택할 수 있다. 특정 실시양태에서, 본 방법은 오이 식물주 PI197088의 자손체 오이 식물, 예를 들어 본원에서 개시되는 API, VJ, 또는 QIR 맵핑 집단의 구성원, 또는 그의 자손체에 대해 수행된다. 상기 방식으로 확인된 QTL은 요구되는 바에 따라 DM 저항성에 또한 기여하는 하나 이상의 다른 QTL과 조합될 수 있다. "QTL 1" (도 5a-5b 및 표 19에서 확인되는 바와 같이 염색체 5:25.3-82.1 cM; 또는 염색체 5:25.2-78.3 cM, 또는 염색체 5:28.5-75.0 cM에 위치함)에 상응하는 도 1에서 확인된 QTL 이외에, 오이의 노균병 저항성에 대해 유의한 효과를 또한 갖는 또 다른 주요 QTL ("QTL 2"로 칭함)이 API, VJ, 또는 QIR 맵핑 집단에서 염색체 4::20.6-87.4 cM (도 5c-5d 및 표 19 참조; 또는 염색체 4:25.8-82.0 cM; 또는 염색체 4:31.8-75.8 cM)에서 확인되었다. 개별적으로, 상기 2개의 QTL의 각각의 대립유전자는 다수의 시험된 지리적 위치에서 성장할 때, 예를 들어 API 및 VJ 맵핑 집단 유전적 배경 모두에서 본원에서 기재되는 DM 병리학 시험에서 식물의 노균병 등급을 유의하게 저하시키는 잠재력을 갖는 것으로 추정된다. 또한, 염색체 2:22.3-88.4 cM에 위치하는 추가의 QTL ("QTL 4"; 도 5e-5f 참조)도 오이 노균병 저항성에서 효과를 갖지만, 그의 유전적 효과는 외관상 더 복잡하고, 다른 QTL 및/또는 성장 환경과 강력한 상호작용을 갖는다.

[0031] 평균적인 개별적인 상가적 대립유전자 효과는 실시예 8에서 기재된 연구로부터 QTL 1에서 0.62 (0.32 - 1.26) 및 QTL 2에서 0.62 (0.47 - 0.93)으로 추정된다. 염색체 4 및 5의 QTL1 및 QTL2 각각에서 약 0.7 질병 점수 단위의 대립유전자 효과가 QIR 맵핑 집단에서 관찰되었다. 따라서, 두 QTL에서 두 저항성 대립유전자를 갖는 개개의 식물은 $0.62 \times 2 + 0.62 \times 2 = 2.48$ 의 질병 등급의 감소를 가질 것으로 보인다. 개별적으로, 각각의 상기 2개의 QTL에 의해 설명되는 표현형 변이의 평균적인 양은 24% (QTL 1) 및 21% (QTL 2)이고, 나머지 76% - 79%는 다른 유전적 효과 및 환경적 (비-유전적) 효과에 의한 것이다.

- [0032] 이들 QTL의 의미 때문에, 본원에서 개시되는 것과 같은 특이적 분자 마커를, 노균병 저항성 형질 또는 형질들을 작물학상 허용되는 오이 식물주에 유전자이입하기 위한 식물 육종 프로그램에 사용할 수 있다. 마커-보조 유전자이입은 하나 이상의 마커에 의해 규정되는 염색체 영역을 한 생식질로부터 제2 생식질로 전달하는 것을 수반한다. 상기 과정의 초기 단계는 연관 분석을 통해 다른 유전자 및 유전자 마커에 대한 특정 유전자의 위치를 결정하는 과정인 유전자 맵핑에 의한 형질의 위치결정이다. 연관 맵핑의 기본적인 원리는 두 유전자가 염색체 상에 보다 근접할수록 이들이 함께 유전될 가능성이 더 크다는 것이다. 간단히 설명하면, 연구 중인 형질 (예를 들어 DM 저항성)에 대해 2개의 유전적으로 호환성이지만 분리되는 모식물체 사이에 교배를 수행한다. 이어서, 유전자 마커를 종종 "맵핑 집단"으로 불리는 교배 자손체에서 연구 중인 형질의 분리를 추적하기 위해 사용한다. 본 발명은 식물을 오이 노균병을 야기하는 병원체에 대해 보다 저항성이 되도록 만들 수 있는 유전 물질의 오이 내로의 유전자이입, 예를 들어 하나 이상의 QTL에 대한 맵핑에 관한 것이다. 본 발명자들은 강화된 DM 저항성을 담당하는 염색체 영역을 확인하고, 상기 특이적인 연관 블록을 DM에 대한 상기 저항성이 결여된 다른 오이 생식질 내로 유전자이입하기 위해 마커 보조 육종을 사용하였다. 본 발명의 특정 실시양태에서, DM 저항성 오이 식물 또는 식물주를 생산하기 위한 방법은 DM 저항성이 보다 큰 오이 식물, 식물주, 또는 변종으로부터의 QTL 1, QTL 2, 및/또는 QTL 4에 위치하는 적어도 하나의 염색체 좌위를 DM 저항성이 보다 작은 오이 식물, 식물주, 또는 변종 내로 유전자이입하는 것을 포함한다. 구체적인 실시양태에서, DM 저항성이 보다 큰 오이 식물, 식물주, 또는 변종은 PI197088, 또는 그의 자손체 식물이다.
- [0033] 특정 DNA 요소 또는 요소의 세트의 식물 유전자형 내로의 유전자이입은 역교배 전환 과정의 결과로서 규정된다. 그 내부로 DNA 서열이 유전자이입된 식물 유전자형은 역교배 전환된 유전자형, 식물주, 또는 변종으로서 언급될 수 있다. 상기 유전자형, 식물주, 또는 변종은 동계교배 (inbred) 또는 교잡종 유전자형, 식물주, 또는 변종일 수 있다. 이와 유사하게, 상기 요구되는 DNA 서열이 결여된 식물 유전자형은 비전환된 유전자형, 식물주, 또는 변종으로서 언급될 수 있다. 육종 동안, 강화된 DM 저항성과 연관된 유전자 마커는 슈도페로노스포라 쿠벤시스에 대한 증가된 저항성을 갖는 오이 식물을 생산하기 위한 육종을 돕기 위해 사용될 수 있다. 숙련된 당업자는 오이 식물 내로의 DM 저항성 형질의 유전자이입을 시각적 증거, 예를 들어 본원에서 기재되는 질병 등급 기준에 따른 질병 저항성 시험의 사용, 및/또는 본원에서 기재되는 분자 마커의 존재에 대한 모니터링 및 육종 (즉, 마커 보조 선택)에 의해 모니터링할 수 있음을 이해할 것이다.
- [0034] 그러한 마커를 특이적인 게놈 영역 또는 콘텍 (contig)에 위치시킬 경우 추가로 연관 서열을 육종에 사용할 수 있게 되어, 추가의 연관된 유전자 마커를 개발하고 보다 정밀한 유전적 및 생화학적 수준에서 저항성에 대한 메카니즘을 확인할 수 있게 된다. 본원에서 확인된 염색체 영역에 보다 근접하게 위치하는 다른 마커 또는 프로브를 이용하여 DM 저항성을 위해 요구되는 QTL을 포함하는 식물을 확인할 수 있음은 당업자에게 이해될 것이다. 본 발명의 염색체 영역은 DM 저항성 생식질, 예를 들어 PI197088 또는 그의 자손체로부터 다른 생식질, 바람직하게는 작물학상 유용한 오이 생식질 내로의 증가된 DM 저항성의 유전자이입을 용이하게 한다. 염색체 영역이 바람직한 오이 식물, 식물주, 또는 변종의 DM 저항성을 향상시키는 한, 다양한 크기의 연관 블록이 본 발명의 범위 내에서 전달될 수 있다. 따라서, 본 발명은 마커가 모식물체 사이에서 다형성일 것을 전제로 하여, 유전적으로 유사한 영역에 위치하는 임의의 분자 마커를 사용하여 실시할 수 있음이 강조된다.
- [0035] 특정 실시양태에서, 이들 마커는 예를 들어 문헌 [Ren et al. (PLoS ONE 4:e5795, 2009; doi: 10.1371/journal.pone.0005795)]의 유전자 지도에서 규정된 바와 같은 오이 염색체 2, 4, 또는 5에 위치하는 DM 저항성을 위한 상기 기재된 QTL에 유전적으로 연관될 수 있다. 특정 실시양태에서, 마커는 본원에서 기재되는 API 및 VJ 맵핑 집단의 분석을 기초로 하여 22.6-81.0 cM에서 염색체 5 상에 규정된 QTL 1; 또는 37.7-87.6 cM에서 염색체 4 상에 규정된 QTL 2; 또는 21.8-73.8 cM에서 염색체 2 상에 규정된 QTL 4의 50 cM, 45 cM, 40 cM, 30 cM, 20 cM, 10 cM, 5 cM, 3 cM, 1 cM, 또는 그 미만 내에 위치한다. 특정 실시양태에서, 오이 염색체 5, 4, 또는 2 상에 위치하는 DM 저항성을 위한 상기 QTL 중 임의의 것의 존재를 추적하기 위해 사용되는 마커는 표 13 및 22에 제시된 서열 20-87 중의 하나의 단일 뉴클레오타이드 다형성을 포함하는 NN0223782, NN0225385, NN0226670, NN0224124, NN0246472, NN0225358, NN0227700, NN0224617, NN0247695, NN0227242, NN0223824, NN0223181, NN0226638, NN0225012, NN0228579, NN0226451, NN0225088, NN0226219, NN0247551, NN0246357, NN0225551, NN0226732, NN0247689, NN0247342, NN0224702, NN0225482, NN0224538, NN0247543, NN0224041, NN0228853, NN0227762, NN0227587, NN0228457, NN0246356, NN0246332, NN0223399, NN0223689, NN0247731, NN0226166, NN0225480, NN0246411, NN0227759, NN0247348, NN0228465, NN0247786, NN0226645, NN0223809, NN0227071, NN0226870, NN0228148, NN0246378, NN0224041, NN0227587, NN5096749, NN0224856, NN0223160, NN0223809, NN0226631, NN0227981, NN0247786, NN0246425, NN0224495, NN0225088, NN0227071, NN0223782,

NN0228579, NN0247342, 및 NN0247731, 및 UBC12-1200, 및 CAPs_ENK59, 또는 이들 QTL 중 임의의 것에 연관된 다른 유전자 마커로 이루어지는 군 중에서 선택된다. DM에 대한 저항성을 부여하는 대립유전자의 존재는 익히 공지되어 있는 기술, 예를 들어 서열 1-87로 이루어지는 군 중에서 선택되는 서열을 포함하는 프로브 또는 프라이머를 이용하는 핵산 검출 방법에 의해 확인할 수 있다. 특정 실시양태에서, 방법은 서열 20-87 중 하나 이상에 제시된 하나 이상의 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP)의 존재를 검출하는 것을 포함한다.

[0036] 특정 실시양태에서, 염색체 2의 DM 저항성 QTL은 SNP 마커 NN0223782 (표 19에 따른 지도 위치 22.5) 내지 SNP 마커 NN0226638 (지도 위치 88.4)에 의해 규정되는 영역을 차지하는 것으로서 규정된다. 다른 실시양태에서, 염색체 2의 DM 저항성 QTL은 SNP 마커 NN0246378 (표 19 또는 22에 따른 지도 위치 약 14.6) 내지 SNP 마커 NN0246472 (표 19에 따른 지도 위치 38.4)에 의해 규정되는 영역을 차지하는 것으로서 규정된다.

[0037] 특정 실시양태에서, 염색체 4의 DM 저항성 QTL은 SNP 마커 NN0225012 (지도 위치 20.6) 내지 SNP 마커 NN0227587 (지도 위치 87.4)에 의해 규정되는 영역을 차지하는 것으로서 규정된다. 다른 실시양태에서, 염색체 4의 DM 저항성 QTL은 SNP 마커 NN0225088 (지도 위치 30.4) 내지 SNP 마커 NN0224041 (지도 위치 75.8)에 의해 규정되는 영역을 차지하는 것으로서 규정된다. 다른 실시양태에서, 염색체 4의 DM 저항성 QTL은 SNP 마커 NN0228579 (지도 위치 25.8) 내지 SNP 마커 NN0224495 (지도 위치 82.0)에 의해 규정되는 영역을 차지하는 것으로서 규정된다..

[0038] 특정 실시양태에서, 염색체 5의 DM 저항성 QTL은 표 13 및 19에 나열된 바와 같이 SNP 마커 NN0228457 (지도 위치 25.2) 내지 SNP 마커 NN0228148 (지도 위치 82.7)에 의해 규정되는 영역을 차지하는 것으로서 규정된다. 다른 실시양태에서, 염색체 5의 DM 저항성 QTL은 SNP 마커 NN0224856 (지도 위치 28.5) 내지 SNP 마커 NN0223160 (지도 위치 75.0)에 의해 규정되는 영역을 차지하는 것으로서 규정된다. 또 다른 실시양태에서, 염색체 5의 DM 저항성 QTL은 SNP 마커 NN5096749 (지도 위치 25.2) 내지 SNP 마커 NN0227071 (지도 위치 78.3)에 의해 규정되는 영역을 차지하는 것으로서 규정된다.

[0039] 또한, QTL 1은 오이 식물주 루신데 및 PI197088의 교배를 기초로 한 맵핑 집단에서 연관군에서 약 5 cM - 39 cM에서 유전자 마커 ENK59와 CAPs_17563/66 사이에 위치하는 것으로, 또한 상기 맵핑 집단의 분석에 의해 규정되는 바와 같이 규정된다 (예를 들어, 도 1 참조). 또한, 당업자는 상기 유전자 지도 위치의 지정이, 예를 들어 각각 관찰되는 재조합의 수준, 및 따라서 지정된 유전자 지도 위치에 영향을 줄 수 있는 사용되는 모식물주, 마커 밀도, 및 집단의 크기를 비롯하여 분석되는 맵핑 집단에 의해 영향받을 수 있음을 이해할 것이다. 통합된 유전자 및 물리적 지도는 오이 QTL의 위치, 예를 들어 문헌 [Ren et al., 2009]에서 제시되는 위치를, 예를 들어 공지의 유전자 및/또는 물리적 지도 위치를 갖는 마커에 대해 규정하기 위해 사용될 수 있다.

[0040] 본 발명의 DM 저항성 오이 식물은, DM 저항성을 포함하지만 열등한 작물학상 특징을 갖는 PI197088로 지정된 식물주로부터 오이 내로 도입된, DM 저항성을 부여하는 하나 이상의 대립유전자를 보유할 수 있다. 본 발명의 생성되는 DM 저항성 오이 식물은 놀랍게도 해로운 형질은 결여되면서 DM 저항성과 함께 최상급 작물학상 형질을 나타낸다.

[0041] DM 저항성 오이 식물은 열매 위의 덩굴을 형성하는 큰 잎들을 가질 수 있다. 덩굴은 대개 무한 성장하고 격자 구조물 또는 땅에서 성장한다. DM 저항성 오이 식물은 암녹색, 녹색, 연녹색 내지 황색, 및 간혹 황색 내지 갈색 잎을 가질 수 있다. DM 저항성 오이 식물의 잎은 크기가 상이하지만, 대개 약 200-250 mm의 길이와 150-200 mm의 폭을 갖고, 대체로 단순하고, 번갈아 생기고, 손바닥 모양이고, 높게 자란다.

[0042] 본 발명의 DM 저항성 오이 식물의 익은 열매는 연녹색 내지 녹색 또는 심지어 암녹색까지 다를 수 있고, 일반적으로 개별 열매의 색상은 보다 밝은 색상의 과정부 (blossom end)부터 보다 어두운 색상의 줄기꼭지 (stem-end)까지 상이하다. 색상은 황색 반점으로 얼룩덜룩할 수 있다. DM 저항성 오이의 열매는 대개 끝부분이 둥글거나 무딘 가늘고 긴 원통형이지만, 또한 곧거나 굽을 수 있고, 대체로 수확 성숙기에 길이가 25-30 cm이지만, 열매는 11-14 cm에 먹을 수 있다. 열매의 껍질은 대개 매끄럽고 흐릿하고 두껍고; 껍질은 다양한 수의 돌기를 가지면서 질기거나 연할 수 있다. 열매의 과육은 대체로 크림색이고, 줄무늬가 있거나 없고, 쓴맛이 없는 맛을 가진다.

[0043] 본원에서 사용될 때, "감수성 대조 오이 식물"은 현대 오이 식물의 상업적으로 이용가능한 야생형 친척을 비롯하여 노균병에 감수성인 (DM 감수성) 오이 식물을 의미한다. 하나의 측면에서, 대조 오이 식물은 변종 마람 (MARAM), SMR58, 코로나 (CORONA), 또는 스프린트 (SPRINT) 440이다. 또한, "저항성 대조 오이 식물"은 DM 저항성 오이 변종을 평가할 때 이용될 수 있다. 하나의 실시양태에서, 상기 대조군은 DM에 감수성이 아니지만,

작물학상 바람직하지 않은 오이 식물, 예를 들어, 변종 PI197088이다. 이와 유사하게, 일부 대조군은 중간 저항성을 가질 수 있고, 예를 들어, DM에 대한 중간 저항성을 갖는 대조군은 DMP21, GP14, LLP-1, 아데렘, 스위트라이스 (SWEETSLICE), 또는 포인세트 (POINSETT) 76일 수 있다. 본원에서 기재되는 바와 같이, 대조 오이 식물주는 본 개시내용에 따라 비교용 오이 식물주와 유사한 환경 조건 하에 성장한다.

[0044] 본원에서 사용될 때, "교잡종 오이 식물"은 쿠쿠미스 사티부스 종 내의 집단, 품종 또는 재배종 사이의 교배로부터 직접 또는 간접적으로 생성되는 식물을 포함한다. 본원에서 사용될 때 "교잡종 오이 식물"은 또한 상이한 변종 또는 유전자형 사이의 교배로부터 직접 또는 간접적으로 생성되는 식물을 의미한다.

[0045] 본원에서 사용될 때, "자성 모식물체"는 화분이 난세포에 성공적으로 수분되는, 웅성 공여자 식물주로부터의 화분의 수여체인 오이 식물을 의미한다. 자성 모식물체는 화분의 수여체인 임의의 오이 식물일 수 있다. 그러한 자성 모식물체는 예를 들어 유전자 웅성 불임, 세포질 웅성 불임 때문에, 또는 수술을 수작업으로 거세하였기 때문에 웅성 불임일 수 있다. 유전자 또는 세포질 웅성 불임은 상이한 방식으로, 예를 들어 멸균 화분, 기형의 또는 수술이 없는 꽃, 위치적 (positional) 불임, 및 기능적 불임으로 표시될 수 있다.

[0046] 본원에서 사용될 때, "세포질 웅성 불임"은 대체로 자가수분으로 번식할 수 없지만, 타가수분으로 번식할 수 있는 식물을 의미한다.

[0047] 본원에서 사용될 때, "연관"은 동일한 염색체 상의 대립유전자가 그 전달이 독립적인 경우에 예상되는 것보다 더 빈번하게 함께 분리되는 경향을 보이는 현상이다.

[0048] 본원에서 사용될 때, "마커"는 적어도 하나의 표현형, 유전자형, 또는 다형성의 존재에 대한 표시자이다. 마커는 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP), 절단가능한 증폭된 다형성 서열 (CAPS), 증폭된 단편 길이 다형성 (AFLP), 제한 단편 길이 다형성 (RFLP), 단일 서열 반복체 (SSR), 삽입(들)/결실(들) ("INDEL"(들)), 단일 서열간 반복체 (ISSR), 및 무작위 증폭된 다형성 DNA (RAPD) 서열을 포함하고 이로 제한되지 않는다. 마커는 바람직하게는 환경적 변이 성분 없이, 즉, 1의 유전율로 공동우성 (codominant) 방식으로 유전된다 (이배체 이형접합체 내의 좌위에서 두 대립유전자 모두 쉽게 검출가능하다). 본원에서 사용되는 "핵산 마커"는 DM 저항성과 연관된 다형성, 표현형, 또는 둘 모두를 검출하기 위한 마커가 될 수 있는 핵산 분자를 의미한다. 마커 서열 또는 마커 서열에 플랭킹하는 서열에 대한 핵산 프로브 또는 프라이머의 혼성화를 위한 엄격한 조건은 예를 들어 5 X SSC, 50% 포름아미드, 및 42°C의 핵산 혼성화 조건을 의미한다. 본원에서 사용될 때, "마커 검정"은 특정 방법, 예를 들어 적어도 하나의 표현형 (예를 들어, 질병 저항성을 비롯하여 가시적으로 검출가능한 형질)의 측정, 제한 단편 길이 다형성 (RFLP), 단일 염기 연장, 전기영동, 서열 정렬, 대립유전자 특이적 올리고뉴클레오타이드 혼성화 (ASO), 무작위 증폭된 다형성 DNA (RAPD), 마이크로어레이-기반 기술, PCR-기반 기술, 및 핵산 서열분석 기술 등을 사용하여 특정 좌위에서 다형성을 검출하는 방법을 의미한다.

[0049] 본원에서 사용될 때, 육종에 의해 DM 저항성 오이 식물 내로 도입될 수 있는 "바람직한 형질" 또는 "바람직한 형질들"은 오이 열매 또는 오이 식물에 대한 것일 수 있다. 오이 식물 및 오이 열매 내로 도입되는 바람직한 형질은 독립적으로 선택될 수 있다. 예를 들어 작물학상 최상급 식물주 또는 재배종에 의해 제시되고 독립적으로 선택될 수 있는 바람직한 오이 열매 형질은 다음을 포함하고 이로 제한되지 않는다: 열매 크기, 형태, 색상, 표면 외관; 종자 수, 종자 크기, 씨방 수; 과피 두께 및 질긴 정도; 맛, 쓴맛, 돌기의 존재, 및 보관 수명. 예를 들어 작물학상 최상급 식물주 또는 재배종에 의해 제시되고 독립적으로 선택될 수 있는 바람직한 오이 열매 형질은 다음을 포함하고 이로 제한되지 않는다: 식물 활력, 잎 형태, 잎 길이, 잎 색상, 식물 높이, 식물의 유한 성장 여부, 성숙까지의 시간, 노지 성장 적응성, 온실 성장 적응성, 및 하나 이상의 질병 또는 질병 유발 유기체, 예를 들어 청고병, 뿌리혹 선충, 담배 모자이크 바이러스, 오이 검은별무늬병, 탄저병 1형, 흰가루병 (예를 들어, 에리시페 시코라세아룸 (*Erysiphe cichoracearum*) 또는 스파에로테카 풀리기네아 (*Sphaerotheca fuliginea*)에 의해 야기되는), 갈색윤반병, 오이 모자이크 바이러스 및 시들음병에 대한 저항성. 바람직한 오이 열매 형질, 오이 식물 형질, 또는 오이 식물 및 열매 형질의 임의의 조합이 DM 저항성 형질과 조합될 수 있다. 본 발명의 생성되는 작물학상 최상급 DM 저항성 오이 식물은 놀랍게도 해로운 형질은 결여되면서 DM 저항성과 함께 상기 작물학상 형질을 나타낸다.

[0050] 본원에서 사용될 때, "다형성"은 하나 이상의 개체의 집단 내의 하나 이상의 좌위에서 핵산 서열의 하나 이상의 변이의 존재를 의미한다. 변이는 하나 이상의 염기 변화, 하나 이상의 뉴클레오타이드의 삽입 또는 하나 이상의 뉴클레오타이드의 결실을 포함할 수 있고 이로 제한되지 않는다. 다형성은 핵산 복제의 무작위 과정으로부터, 돌연변이 유발을 통해, 이동 게놈 요소의 결과로서, 카피수 변이로부터 및 감수분열 과정 동안, 예를 들어 불균등 교차, 게놈 중복 및 염색체 파단 및 융합에 의해 발생할 수 있다. 변이는 집단 내에서 공통적으로 발견될 수

있거나, 또는 낮은 빈도로 존재할 수 있고, 전자는 일반적인 식물 육종에 보다 유용하고, 후자는 드물지만 중요한 표현형 변이와 연관될 수 있다. 유용한 다형성은 단일 뉴클레오타이드 다형성 (SNP), DNA 서열 내의 삽입 또는 결실 (Indel), DNA 서열의 단일 서열 반복체 (SSR), 제한 단편 길이 다형성, 및 태그 SNP를 포함할 수 있다. 유전자 마커, 유전자, DNA-유래 서열, 일배체형, RNA-유래 서열, 프로모터, 유전자의 5' 비번역 영역, 유전자의 3' 비번역 영역, 마이크로RNA, siRNA, QTL, 위성 (satellite) 마커, 트랜스진 (transgene), mRNA, dsRNA, 전사 프로파일, 및 메틸화 패턴이 다형성을 포함할 수 있다. 또한, 상기의 카피수의 존재, 부재 또는 변화가 다형성을 포함할 수 있다.

[0051] 본원에서 사용될 때, "유전자형"은 개개의 식물 내의 좌위에서의 실제 핵산 서열이다. 본원에서 사용될 때, "표현형"은 유전자형에 의해 영향받을 수 있는 세포 또는 유기체의 검출가능한 특징 (예를 들어 DM 저항성의 수준)을 의미한다.

[0052] 본원에서 제공되는 오이 식물의 DM 저항성은 완전한 저항성 또는 부분적인 저항성으로서 잠재적으로 규정될 수 있다. 본원에서 제공되는 오이 식물의 DM 저항성은 당업계에서 이용가능한 임의의 수단에 의해 측정될 수 있다.

[0053] 하나의 측면에서, 오이 식물의 DM 저항성은 잎 영역을 덮는 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60% 및 약 60% 초과 의 병변의 증상 정도를 사용하여, 오이 잎 상에 DM의 집중 또는 감염 후의 잎 황백화 및/또는 괴저성 병변 발생 의 질병 등급을 사용함으로써 결정된다. 0%의 질병 등급은 완전한 저항성 식물을 나타낸다.

[0054] 또 다른 측면에서, DM 저항성은 오이 잎 및/또는 떡잎 상의 DM의 1회 이상의 차수의 집중 또는 감염 후의 증상 발생의 질병 등급을 얻음으로써 결정된다.

[0055] 잎 시험에서 저항성은 다음과 같은 예시적인 척도로 평가될 수 있다:

[0056] **지수값 증상**

- | | | |
|--------|---|----------------------------------|
| [0057] | 1 | 증상의 부재 |
| [0058] | 2 | 확장을 보이지 않으면서 미약한 작은 괴저성 병변 |
| [0059] | 3 | 제한된 확장을 보이면서 미약한 황백화 및 일부 괴저성 병변 |
| [0060] | 4 | 제한된 괴저성 병변을 보이면서 큰 확장성 각반성 황백화 |
| [0061] | 5 | 확장성 괴저성 병변을 보이면서 큰 확장성 각반성 황백화 |

[0062] 시험체는 증상이 감수성 검사체 (예를 들어 재배종 마람 또는 SMR58)에서 발생한 후 평가된다. PI 197088은 "저항성" 대조군으로 사용될 수 있고; 재배종 포인세트 76 또는 대등한 수준의 노균병 저항성을 보이는 다른 재배종은 피. 쿠벤시스 (*P. cubensis*)에 대한 저항성/감수성의 "중간" 수준을 평가하기 위한 대조군으로서 사용될 수 있다. 각각의 시험 경작지에 대해 3개 장소에서, 즉 각각의 단부에서 및 중앙에서 관찰한다. 각각의 시험 경작지에 대한 평균 질병 지수를 계산한다. 이를 3개의 모든 반복 시험에 대해 평균하고, 표준편차를 결정한다. 이어서, "저항성", "중간 저항성" 및 "감수성"의 범주에 대한 질병 지수 범위를 결정한다. 차이는 일반적으로 최종 질병 저항성 수준을 결정하기 전에 수회 시험된다. 1-5의 점수는 저항성 또는 감수성의 상이한 수준을 나타낸다. 1회 이상의 차수의 집중 또는 감염, 및 바람직하게는 2회 이상의 차수의 감염 후의 1-2의 점수는 저항성 식물을 나타낸다. 1회 이상의 차수의 집중 또는 감염, 바람직하게는 2회 이상의 차수의 감염 후의 3의 점수는 중간 저항성을 보이는 식물을 나타낸다. 4-5의 점수는 감수성 식물을 나타낸다. 상기 1-5 척도의 점수는 1-9 척도에 서로 관련되는데, 여기서 1=1, 2=3, 3=5, 4=7, 및 5=9이다. 또한, 저항성 정도는 예를 들어 실시예 6에서 기재되는 바와 같은 대체 등급 기준에 의해 평가될 수 있다.

[0063] 본 발명의 하나의 측면에서, 식물을 디지털 영상에서 캡처된 식물당 약 3개의 잎을 사용하여 잎 조직의 영상 분석에 의해 DM 저항성, 부분적인 저항성 또는 감수성에 대해 검정한다. 조직 손상의 백분율을 결정하고 질병 등급을 도출하기 위해 영상 분석을 수행한다. 가시적인 차이를 2차원 또는 3차원으로 정량하기 위해 사용되는 영상 분석 소프트웨어 및 방법은 문헌 [Bright, 1987 (J. Microscopy 148:51-87)] 및 [Bickmore et al., 1999 (Geol. Mat. Res. 1(5): 1-19)]에 제시된 것이다. 영상 분석에서, "고저항성"은 약 0% 내지 5% 잎 영역에서 황백화 및/또는 괴저성 병변의 증상을 보이고; "저항성"은 약 1% 내지 20%의 잎 영역에서 황백화 및/또는 괴저성 병변의 증상을 보이고; "실질적으로 저항성"은 약 20% 내지 30%의 잎 영역에서 황백화 및/또는 괴저성 병변의 증상을 보이고; "중등 저항성"은 40% 내지 50%의 잎 영역에서 황백화 및/또는 괴저성 병변의 증상을 보이고;

"부분적으로 저항성"은 약 50% 또는 그 미만의 잎 영역에서 황백화 및/또는 괴저성 병변의 증상을 보이고; "중등-감수성"은 약 50% 내지 60%의 잎 영역에서 황백화 및/또는 괴저성 병변의 증상을 보이고; "감수성"은 약 60% 내지 100%의 잎 영역에서 황백화 및/또는 괴저성 병변의 증상을 보이는 것이다. 저항성 식물은 본원에 개시된 다른 측면에 의해, 또는 감염 수준을 결정하기 위한 다른 수단, 예를 들어 정량적 PCR에 의해 특성이 결정될 수 있다.

[0064] DM 저항성, 또는 부분적인 저항성을 갖는 오이 식물주는 DM의 접종 또는 감염 후에 비-저항성 대조 오이 식물주에 비해 감소된 수준의 증상을 보인다. 증상의 수준은 DM 저항성의 표시자로서 사용될 수 있다. 측정된 질병 증상은 DM 감염과 연관된 임의의 질병 증상일 수 있다. 증상은 잎 흑병, 괴사, 무른 열매, 모자이크, 황백화 잎맥, 황백화 잎 반점, 잎의 황백화 및/또는 연녹색 모자이크, 열매 병변, 또는 이들의 조합으로 이루어지는 군 중에서 선택될 수 있다. 하나의 측면에서, DM 저항성 오이 식물주는 비-저항성 대조 오이 식물주에 비해 황백화 및/또는 괴저성 병변의 잎 증상의 적어도 10%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 98%, 또는 이보다 큰 감소를 보인다. 다른 측면에서, DM 저항성 오이 식물의 잎은 DM에 노출될 때 15% 미만, 또는 10% 미만, 또는 5% 미만, 또는 2% 미만의 증상을 나타내는 영역을 보인다. 또 다른 측면에서, 오이 식물은 오이 변종 또는 재배종에 속하고, 또 다른 측면에서, 오이 식물은 동계교배 오이 식물이다.

[0065] 다른 측면에서, 본원에서 제공되는 오이 식물 및 변종은 DM의 접종 또는 감염 후에 황백화 및/또는 괴저성 병변의 증상을 거의 또는 전혀 보이지 않는다. 일부 측면에서, DM 저항성 오이 식물은 오이 잎 표면의 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3% 2%, 또는 1% 미만에서 황백화 및/또는 괴저성 병변의 증상을 보인다.

[0066] DM 저항성 오이 식물은 비-저항성 대조 오이 식물에 비해 황백화 및/또는 괴저성 병변의 증상 개시의 지연을 보일 수 있다. 일부 실시양태에서, DM 저항성 오이 식물은 대조 오이 식물에 비해 황백화 및/또는 괴저성 병변의 증상 개시의 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14일, 또는 그 초과를 지연을 보인다. 다른 실시양태에서, DM 저항성 오이 식물은 대조 오이 식물에 비해 황백화 및/또는 괴저성 병변의 증상 개시의 적어도 7일 또는 그 초과, 10일 또는 그 초과, 또는 14일 또는 그 초과를 지연을 보인다.

[0067] 하나의 측면에서, 오이 식물은 접종 또는 감염시에 모종이다. 일부 측면에서, 오이 식물은 접종시에 발생 4, 5, 6, 7, 또는 8엽기의 모종이다. 하나의 측면에서, 질병 증상은 오이 식물의 병원성 시험접종 후의 임의의 시간에 측정될 수 있다. 다른 측면에서, 증상은 접종하고 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21일, 또는 그 초과 시간 후에 측정될 수 있다. 또 다른 측면에서, 오이 식물은 접종 또는 감염시에 임의의 시기의 식물이다.

[0068] 다른 측면에서, 질병 증상은 전체 식물 또는 그의 일부, 예를 들어, 식물 절단체의 DM 시험접종 후에 관찰될 수 있다.

[0069] 본 발명의 DM 저항성 오이 식물은 DM 접종된 대조 오이 식물에 비해 DM의 접종 또는 감염 후에 과실 수량의 증가를 보일 수 있다. 하나의 측면에서, 저항성 오이 식물은 1회 이상의 차수의 DM의 접종 또는 감염 후에 대조 오이 식물에 비해 열매의 총 질량, 수, 또는 총 부피를 기준으로 과실 수량의 2%, 5%, 10%, 15%, 20% 또는 그 초과를 증가를 보인다.

[0070] 본 발명은 하나 이상의 유형의 DM에 대해 저항성을 보이는 오이 식물을 제공하고 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 오이 식물은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 또는 그 초과 유형의 DM에 대해 저항성을 보인다.

[0071] 본 발명은 DM 저항성을 갖는 식물을 생산할 수 있는 오이 식물의 종자를 제공한다. 하나의 측면에서, 오이 식물은 방임 수분 (open-pollinated) 변종, 교잡종 모 동계교배 식물주, 또는 웅성 멸균 식물주일 수 있다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 DM 저항성을 갖는 교잡종 오이 식물을 생산할 수 있는 오이 식물의 종자를 제공한다.

[0072] 본 발명의 오이 식물은 온실 오이 생산 또는 노지 오이 생산에 적용된 오이 식물주일 수 있다. 하나의 측면에서, 본 발명의 오이 식물은 온실 오이 생산에 적용된 것이다.

[0073] 본 발명은 또한 DM 저항성을 갖는 교잡종 오이를 제공한다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 DM의 접종 또는 감염 후에 DM 저항성을 보이는 교잡종 오이를 제공한다.

[0074] 상업적으로 가치있는 오이 식물은 본 발명의 하나의 측면을 나타낸다. 하나의 측면에서, 예를 들어, 열매 크기, 형태, 색상, 중량, 맛 및 과일 수량을 비롯한 특정 오이 형질이 작물의 상업적인 가치에서 중요할 수 있다. 오이가 가공, 예를 들어 피클 생산을 위해 재배될 경우 열매 크기, 및 형태가 특히 관심의 대상일 수

있다. 본 발명은 길이가 약 11, 12, 13, 또는 14 cm, 또는 그 초과인 오이 열매를 생산하는 오이 식물을 제공한다. 또 다른 측면에서, 본 발명의 오이 식물은 길이가 약 11 내지 13 cm, 12 내지 14 cm, 및 11 내지 14 cm 인 오이 열매를 생산한다.

[0075] 일부 측면에서, 본 발명의 오이 식물은 수확시 중량이 약 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 및 125 g 또는 그 초과인 오이 열매를 생산할 수 있다. 다른 측면에서, 본 발명의 오이 식물은 수확시 중량이 약 80 내지 약 125 g, 약 90 내지 약 115 g, 약 100 내지 약 120 g, 약 90 내지 약 125 g, 약 95 내지 약 125 g, 약 100 내지 약 125 g, 또는 약 115 내지 125 g인 오이 열매를 생산한다. 열매 중량은 개개의 오이 열매의 중량을 저울로 칭량함으로써 측정된다.

[0076] 본 발명의 DM 저항성 식물에 의해 생산된 성숙 오이 열매의 직경은 약 10, 11, 12, 13, 또는 14 mm 또는 그 초과일 수 있다. 일부 실시양태에서, 오이 열매의 직경은 약 10 내지 약 11 mm, 또는 약 10 내지 약 12 mm, 또는 약 11 내지 약 13 mm, 또는 약 12 내지 약 14 mm, 또는 약 13 내지 약 14 mm일 수 있다.

[0077] 오이 열매 숙성, 예를 들어 형태, 중량, 또는 크기는 다양한 횡수로 측정 또는 평가될 수 있다. 하나의 측면에서, 숙성은 성장 챔버에서 성장 후에 측정된다. 또 다른 측면에서, 숙성은 수확시에 측정된다. 또 다른 측면에서, 숙성은 수확하고 1일, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 8일, 9일, 10일, 11일, 12일, 13일, 2주, 3주, 4주 또는 5주 동안 주위 조건에서 오이 열매를 저장한 후 측정된다.

[0078] 하나의 실시양태에서, DM 저항성을 갖는 오이 식물로부터의 오이 열매의 총 열매 품질 등급은 1, 3, 5, 7, 또는 9이고, 열매 품질은 시각적인 검사에 의해 측정되고, 그 범위는 1=우수 내지 9=불량이다; 그 지역에서 재배된 표준 시판 교잡종에 비해 등급 1=우수; 3=평균 초과; 5=평균; 7=평균 미만; 9=불량. 열매 품질은 열매 색상, 열매 형태, 열매 길이 및 직경에 대한 것이다.

[0079] 본 발명의 추가의 측면은 본원에서 기재되는 오이 식물의 조직 배양물에 관한 것이다. 본원에서 사용될 때, 용어 "조직 배양물"은 하나 이상의 종류의 단리된 세포를 포함하는 조성물, 또는 식물의 일부로 조직화된 상기 세포의 집단을 나타낸다. 조직 배양물은 원형질체 및 캘러스를 포함하는 조성물을 포함하고 이로 제한되지 않는다. 또한, 조직 배양물은 무손상 식물 조직, 또는 식물의 일부, 예를 들어 배아, 잎, 꽃자루, 작은 꽃자루, 꽃밥, 분열조직, 뿌리의 끝 및 부분, 밀동 및 줄기, 외식편 등에 존재하는 식물 세포를 포함하는 조성물을 포함하고 이로 제한되지 않는다. 하나의 측면에서, 조직 배양물은 배아, 원형질체, 분열조직 세포, 화분, 잎, 꽃밥 또는 상기 식물 부분의 미성숙 조직으로부터 유래된 세포를 포함한다. 식물 조직 배양물의 제조 및 유지 방법은 당업계에 공지되어 있다. 조직 배양 및 오이의 재생성 방법의 예는 예를 들어 문헌 [Fillatti et al., 1987 (Bio/Technology, 5:726-730)]에 기재되어 있다. 일부 측면에서, 본원에서 기재되는 오이 식물의 조직 배양물은 본원에서 기재되는 DM 저항성 식물의 무손상 부분으로부터 단리되거나 이들에 존재하는 원형질체, 캘러스, 또는 식물 세포의 배양물에 관한 것이다. 또 다른 측면에서, 조직 배양물은 그 전체 개시내용이 본원에 참고로 포함된 미국 특허 출원 일련 번호 12/424,452 (US 2009-0265803으로 공개됨)에 나열된, 교배 또는 역교배에 의해 생산되는 것을 비롯하여 ASL147-2027, EUR154-1012GY, EUR154-1021GY, GSP33-1094GY, GPN33-1093GY, 03/8020-20_TUP03_DMFL_1, 03/8024-19_TUP03_DMFL_1, 및 03/8039-5_TUP03_DMFL_1, 및 그의 DM 저항성 자손체로 이루어지는 군 중에서 선택되는 하나 이상의 DM 저항성 오이 식물주의 식물의 무손상 부분으로부터 단리되거나 이들에 존재하는 원형질체, 캘러스, 또는 식물 세포의 배양물을 의미한다. 상기 식물주 및 미국 특허 공개 2009-0265803에 나열된 그의 DM 저항성 자손체의 종자의 대표적인 샘플은 ATCC 기탁 번호 PTA-9375, ATCC 기탁 번호 PTA-8930, ATCC 기탁 번호 PTA-8931, ATCC 기탁 번호 PTA-8953, ATCC 기탁 번호 PTA-8954, ATCC 기탁 번호 - - - -, ATCC 기탁 번호 - - - -, 및 ATCC 기탁 번호 - - - -로 기탁되었다.

[0080] 또 다른 측면에서, 본원에서 기재되는 오이 식물의 조직 배양물은 본원에서 기재되는 DM 저항성 식물의 무손상 부분으로부터 단리되거나 이들에 존재하는 원형질체, 캘러스, 또는 식물 세포의 배양물에 관한 것이다.

[0081] 일단 DM 저항성 식물이 생산되면, 식물 자체를 통상적인 절차에 따라 재배할 수 있다. DM 저항성 자손체는 유성 생식을 통해 얻을 수 있다. 유성 생식에 의해 생성되는 종자는 DM 저항성 식물의 열매로부터 회수되고, 증식 수단으로서 심거나 다른 방식으로 재배할 수 있다. 또한, DM 저항성 자손체는 무성 생식을 통해 DM 저항성 식물로부터 얻을 수 있다. 원형질체 또는 번식체 (예를 들어, 절단체, 접순 또는 근경)가 DM 저항성 식물 또는 그의 일부로부터 회수될 수 있고, DM 저항성 식물의 증식을 위해 사용될 수 있다.

[0082] 또한, 본 발명은 그 내부의 50% 초과인 종자로부터 성장한 오이 식물이 DM에 대한 저항성 또는 부분적인 저항성을 갖는 오이 종자의 용기를 제공하고 포함한다. 또 다른 측면에서, 용기 내의 55%, 65%, 75%, 85%, 90%, 95%,

98%, 또는 99% 초과인 오이 종자로부터 성장한 오이 식물이 DM 저항성을 갖는다. 본 발명의 또 다른 측면은 ASL147-2027, EUR154-1012GY, EUR154-1021GY, GSP33-1094GY, GPN33-1093GY, 03/8020-20_TUP03_DMFL_1, 03/8024-19_TUP03_DMFL_1, 및 03/8039-5_TUP03_DMFL_1 및 그의 DM 저항성 자손체로 이루어지는 군 중에서 선택되는 오이 식물로부터의 종자에 관한 것이고, 여기서 약 50%, 또는 50% 초과인 종자로부터 성장한 오이 식물은 DM에 대한 저항성 또는 부분적인 저항성을 갖는다.

[0083] 오이 종자의 용기는 임의의 수, 중량 또는 부피의 종자를 보유할 수 있다. 예를 들어, 용기는 약 10, 25, 50, 200, 400, 700, 1000, 2000, 3000개, 또는 그 초과인 종자를 보유할 수 있다. 또 다른 측면에서, 용기는 약 1, 5, 10, 15, 25, 100, 250, 500, 또는 1,000 g 또는 그 초과인 종자를 보유할 수 있다. 별법으로, 용기는 약 또는 적어도 약 1, 2, 4, 8, 10 온스, 1, 2, 4, 8, 12 파운드 또는 그 초과인 종자를 보유할 수 있다.

[0084] 오이 종자의 용기는 당업계에서 이용가능한 임의의 용기일 수 있다. 예를 들어, 용기는 상자, 백, 통, 파우치, 테일 롤, 호일, 원통형 용기, 또는 관일 수 있다.

[0085] 본 발명은 DM 저항성을 갖는 오이 식물로부터의 오이 열매의 용기를 포함하고 제공한다. 하나의 측면에서, 용기는 약 2, 5, 10, 20, 40, 80, 100개, 또는 그 초과인 오이 열매를 보유한다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 DM에 대한 저항성을 갖는 식물로부터의 오이 열매를 갖는 오이 덩굴을 제공한다.

[0086] 본 발명의 한 측면은 오이 식물에서 발현될 때 DM 저항성을 제시하는 적어도 하나의 유전자 좌위를 포함하는 게놈을 갖는 오이 식물에 의해 생산된 건조된, 또는 다른 방식으로 가공된 오이 열매에 관한 것이다. 가공된 오이 열매는 과육, 끓인 (stewed) 오이, 오이 통조림, 식초에 절인, 잘게 썬, 얇게 썬 또는 분쇄된 오이 열매를 포함하고 이로 제한되지 않는다. 일부 측면에서, 건조된, 식초에 절인, 또는 다른 방식으로 가공된 오이 열매는 ASL147-2027, EUR154-1012GY, EUR154-1021GY, GSP33-1094GY, GPN33-1093GY, 03/8020-20_TUP03_DMFL_1, 03/8024-19_TUP03_DMFL_1, 및 03/8039-5_TUP03_DMFL_1로 이루어지는 군 중에서 선택되는 식물주의 오이 식물의 열매이다.

[0087] 본 발명은 DM에 대한 저항성을 갖는 동계교배 오이 식물을 제공하고, 여기서 저항성은 식물이 DM과 접촉할 때 나타난다. 하나의 측면에서, 동계교배 오이 식물은 기탁 번호 PI197088로부터 유래된 것이다.

[0088] 본 발명은 DM 저항성 형질에 대한 적어도 하나의 대립유전자를 갖는 씨. 사티부스 식물을 포함하고 제공한다. DM 저항성 오이 식물은 DM 저항성 형질에 대해 이형접합성 또는 동형접합성일 수 있다. 하나의 실시양태에서, DM 저항성 형질은 단일 유전자 내의 변이에 연관될 수 있다 (예를 들어, 단일 유전자의 하나 이상의 대립유전자에 연관될 수 있다). 또 다른 실시양태에서, DM 저항성 형질은 하나 또는 하나 이상의 정량적 형질 좌위 (QTL)에서의 변이에 연관될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, DM 저항성 오이 식물은 DM 저항성 형질에 대해 동형접합성일 수 있다.

[0089] 본 발명은 씨. 사티부스가 아닌 식물로부터의 DM 저항성을 제공하는 적어도 하나의 유전자 좌위를 포함하는 게놈을 갖는 씨. 사티부스 오이 식물을 제공한다. 일부 측면에서, DM 저항성 오이 식물은 ASL147-2027, EUR154-1012GY, EUR154-1021GY, GSP33-1094GY, GPN33-1093GY, 03/8020-20_TUP03_DMFL_1, 03/8024-19_TUP03_DMFL_1, 및 03/8039-5_TUP03_DMFL_1, 및 그의 DM 저항성 자손체로 이루어지는 군 중에서 선택된다. 하나의 측면에서, DM 저항성 오이 식물로부터 유래된 유전자 좌위는 유전자 마커를 사용하여 확인될 수 있다.

[0090] 본 발명은 그의 게놈의 50% 또는 그 미만이 씨. 사티부스가 아닌 DM 저항성 식물로부터 유래된 DM 저항성 씨. 사티부스 오이 식물을 제공한다. 또 다른 측면에서, DM 저항성 씨. 사티부스 오이 식물은 씨. 사티부스가 아닌 DM 저항성 식물로부터 유래된 50%, 25%, 12.5%, 6%, 3% 또는 그 미만의 핵 DNA를 가질 수 있다. 다른 측면에서, DM 저항성 씨. 사티부스 오이 식물은 DM 저항성인 쿠쿠미스 속의 또 다른 구성원으로부터 유래된 50%, 25%, 12.5%, 6% 또는 3% 또는 그 미만의 핵 DNA를 가질 수 있다.

[0091] 본 발명은 DM에 대한 저항성을 갖는 오이 식물의 자손체를 제공한다. 본원에서 사용될 때, 자손체는 비제한적으로 두 식물 사이의 임의의 교배 (역교배 또는 다른 교배) 생성물뿐만 아니라, 그의 계통 (pedigree)의 기원이 본래의 교배체로 거슬러 올라가는 모든 자손체도 포함한다. 본 발명의 하나의 측면에서, 자손체는 DM 저항성 오이 식물로부터의 약 50%, 25%, 12.5% 또는 그 미만의 핵 DNA를 함유하고, DM 저항성을 제공하는 유전 물질을 발현한다. DM에 대한 저항성을 갖는 자손체를 포함하는 오이 식물의 대표적인 집단은 감수성 모 재배종 루신데 x PI197088의 교배 자손체, 및 2개의 감수성 모식물체 (API-45-5312-MO 및 VJ03-68-06)를 각각 동일한 저항성 식물주 (PI197088)에 의해 교배시켜 생성된 API 및 VJ 집단을 포함한다.

[0092] 본 발명의 한 실시양태는 하나 이상의 DM 저항성 좌위에 연관된 유전자 마커를 함유하는 DM 저항성 오이 식물을

제공한다. "DM 저항성 좌위"는 단독으로 또는 하나 이상의 다른 DM 저항성 좌위와 조합되어 DM 저항성에 기여하는 좌위를 의미한다. "노균병 저항성에 기여한다"는 것은 해당 좌위가 단독으로 또는 하나 이상의 다른 좌위와 조합될 때 상응하는 식물에서 노균병 저항성의 정도가 증가되는 것을 의미한다.

[0093] 본 발명의 하나의 실시양태에서, 하나 이상의 DM 저항성 좌위에 연관된 마커는 다음 중 하나 이상을 포함한다: CAPs_21826, CAPs_ENK60, CAPs_ENK59, CAPs_17170, CAPs_17179, CAPs_18229, CAPs_17563/66, 및 CAPs_ENK70. 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 하나 이상의 DM 저항성 좌위에 연관된 검정 마커는 CAPs_ENK60, CAPs_17170, 및 CAPs_17563/66을 각각 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 하나 이상의 DM 저항성 좌위에 연관된 마커(들)은 서열 20-87 중의 하나의 단일 뉴클레오티드 다형성을 포함하는 NN0223782, NN0225385, NN0226670, NN0224124, NN0246472, NN0225358, NN0227700, NN0224617, NN0247695, NN0227242, NN0223824, NN0223181, NN0226638, NN0225012, NN0228579, NN0226451, NN0225088, NN0226219, NN0247551, NN0246357, NN0225551, NN0226732, NN0247689, NN0247342, NN0224702, NN0225482, NN0224538, NN0247543, NN0224041, NN0228853, NN0227762, NN0227587, NN0228457, NN0246356, NN0246332, NN0223399, NN0223689, NN0247731, NN0226166, NN0225480, NN0246411, NN0227759, NN0247348, NN0228465, NN0247786, NN0226645, NN0223809, NN0227071, NN0226870, NN0228148, NN0246378, NN0224041, NN0227587, NN5096749, NN0224856, NN0223160, NN0223809, NN0226631, NN0227981, NN0247786, NN0246425, NN0224495, NN0225088, NN0227071, NN0223782, NN0228579, NN0247342, 및 NN0247731로 이루어지는 군 중에서 선택되는 하나 이상의 SNP 마커(들)을 포함한다.

[0094] 본원에서 사용될 때, 핵산 마커 서열 및 요구되는 형질, 예를 들어 DM 저항성을 부여하는 유전자 좌위의 핵산 서열을 비롯한 2개의 핵산 서열의 연관은 유전적 또는 물리적 연관 또는 둘 모두일 수 있다. 본 발명의 하나의 측면에서, 핵산 마커 및 DM 저항성을 부여하는 유전자 좌위는 유전적으로 연관되고, 문헌 [Lander and Botstein, 1989 (Genetics, 121:185-199)]에 기재되고, 소프트웨어 패키지 MAPMAKER (예를 들어, 문헌 [Lander et al., Genomics 1:174-181, (1987)]; 디폴트 파라미터)로 실행되는 최대 가능성 방법을 기초로 하여 DM 저항성 형질에 대한 간격 맵핑에 의해 판단될 때 2.0 초과의 LOD 점수를 보인다. 별법으로, 다른 소프트웨어, 예를 들어 QTL 카르토그래퍼 (Cartographer) v1.17 (문헌 [Basten et al., Zmap-a QTL cartographer. In: Proceedings of the 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production: Computing Strategies and Software, edited by C. Smith, J. S. Gavora, B. Benkel, J. Chesnais, W. Fairfull, J. P. Gibson, B. W. Kennedy and E. B. Burnside. Volume 22, pages 65-66. Organizing Committee, 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Guelph, Ontario, Canada, 1994]; 및 [Basten et al., QTL Cartographer, Version 1.17. Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC, 2004])이 사용될 수 있다. QTL의 맵핑은 문헌에 잘 설명되어 있다 (예를 들어, WO 90/04651; 미국 특허 번호 5,492,547, 5,981,832, 6,455,758; 그 개시내용이 본원에 참고로 포함된 문헌 [Flint-Garcia et al. 2003, Ann. Rev. Plant Biol. 54:357-374]에서 개관됨). 다른 실시양태에서, 마커 및 DM 저항성 부여 영역은 유전적으로 연관되고, 3.0 초과의 LOD 점수, 또는 6.0, 9.0, 12.0, 15.0, 또는 18.0 초과의 LOD 점수를 보인다. 하나의 실시양태에서, 마커 및 DM 저항성 부여 영역은 유전적으로 연관되고, 약 14 내지 약 20의 LOD 점수를 보인다. QTL의 존재를 지정할 때, 본원에서 기재되는 QTL 분석과 연관되는 LOD 역치 점수는 95%, 또는 그 초과의 신뢰 수준, 예를 들어 98% 또는 99% 신뢰 수준에서 유의한 것으로 결정될 수 있다.

[0095] 또 다른 측면에서, 핵산 마커는 DM 저항성 좌위에 약 0 내지 약 50 센티모건 (cM)의 거리에서 유전적으로 연관된다. 다른 실시양태에서, 핵산 마커와 DM 저항성 좌위 사이의 거리는 약 0 내지 약 35 cM, 또는 약 0 내지 약 25 cM, 또는 약 0 내지 약 15 cM, 또는 약 0 내지 약 10 cM, 또는 약 0 내지 약 5 cM, 예를 들어 약 4, 3, 2 또는 1 cM 미만이다.

[0096] 또 다른 측면에서, 본 발명은 SNP 마커 NN0246378 및 SNP 마커 NN0246472; 또는 SNP 마커 NN0246378 및 SNP 마커 NN0247695의 위치를 차지하는 것으로서 규정된 영역 내의 20 cM, 10 cM, 5 cM, 또는 1 cM의, PI197088 또는 그의 자손체 식물의 염색체 2로부터의 유전자이입된 염색체 영역을 포함하는 오이 식물을 제공한다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 SNP 마커 NN0225012 및 SNP 마커 NN0227587; 또는 SNP 마커 NN0228579 및 SNP 마커 NN0224495; 또는 SNP 마커 NN0225088 및 SNP 마커 NN0224041의 위치를 차지하는 것으로서 규정된 영역 내의 20 cM, 10 cM, 5 cM, 또는 1 cM의, PI197088 또는 그의 자손체 식물의 염색체 4로부터의 유전자이입된 염색체 영역을 포함하는 오이 식물을 제공한다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 SNP 마커 NN5096749 및 NN0227071; 또는 SNP 마커 NN5096749 및 SNP 마커 NN0223160; 또는 SNP 마커 NN0224856 및 SNP 마커 NN0223160의 위치를 차지하는 것으로서 규정된 영역 내의 20 cM, 10 cM, 5 cM, 또는 1 cM의, PI197088 또는 그의 자손체 식물의 염색체 5로부터의 유전자이입된 염색체 영역을 포함하는 오이 식물을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 오이 식물은

PI197088로부터의 염색체 2의 유전자이입된 염색체 영역 및 PI197088의 염색체 4 또는 5의 유전자이입된 염색체 영역을 포함할 수 있고, 여기서 유전자이입된 염색체 영역은 하나 이상의 유전자이입된 영역(들)을 포함하지 않는 다르게 유사유전자형 (isogenic)인 오이 식물주에 비해 DM에 대한 향상된 저항성을 가능하게 한다.

[0097] 또한, 오이 식물은 PI197088로부터의 염색체 4의 유전자이입된 염색체 영역 및 PI197088의 염색체 2 및/또는 5의 유전자이입된 염색체 영역, 또는 PI197088 또는 그의 자손체의 염색체 5로부터의 유전자이입된 영역, 및 PI197088 또는 그의 자손체 식물의 염색체 2 및/또는 4의 유전자이입된 염색체 영역을 포함할 수 있고, 여기서 유전자이입된 염색체 영역(들)은 하나 이상의 유전자이입된 영역(들)을 포함하지 않는 다르게 유사유전자형인 오이 식물주에 비해 DM에 대한 향상된 저항성을 가능하게 한다.

[0098] 특정 실시양태에서, PI197088 또는 그의 자손체 식물로부터의 유전자이입된 염색체 단편은 약 20 cM, 10, cM, 5 cM, 또는 1 cM의 염색체 영역을 포함하고, 염색체 5의 SNP 마커 NN0226631에서 PI197088-유래 대립유전자를 추가로 포함한다. 또 다른 실시양태에서, PI197088 또는 그의 자손체 식물로부터의 유전자이입된 염색체 단편은 약 20 cM, 10, cM, 5 cM, 또는 1 cM의 염색체 영역을 포함하고, 염색체 4의 SNP 마커 NN0246425에서 PI197088-유래 대립유전자를 추가로 포함한다.

[0099] 또 다른 측면에서, 핵산 마커 서열은 DM 저항성 좌위에 물리적으로 연관될 수 있다. 일부 측면에서, 유전자 마커의 핵산 서열은 DM 저항성 좌위의 약 30 Mbp, 또는 약 20 Mbp, 또는 약 15 Mbp, 또는 약 10 Mbp, 또는 약 5 Mbp 내의 서열을 갖는 핵산 분자에 특이적으로 혼성화한다. 다른 측면에서, 유전자 마커의 핵산 서열은 서열 1-87 중의 임의의 서열, 또는 그의 상보체를 갖는 핵산 분자에 특이적으로 혼성화한다.

[0100] 본원에서 사용될 때, 2개의 핵산 분자는 이들 2개의 분자가 역평행 이중가닥 핵산 구조를 형성할 수 있다면 서로 혼성화할 수 있다고 언급된다. 통상적인 엄격성 조건은 문헌 [Sambrook et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, New York (1989)] 및 [Haymes et al., Nucleic Acid Hybridization, A Practical Approach, IRL Press, Washington, DC (1985)]에 기재되어 있다. 따라서, 분자가 이중가닥 구조를 형성하는 능력을 완전히 차단하지 않는다면, 완전한 상보성에서 벗어나는 것도 허용될 수 있다. 따라서, 핵산 분자가 프라이머 또는 프로브로서 기능하기 위해서는, 단지 사용되는 특정 용매 및 염 농도 하에서 안정한 이중-가닥 구조를 형성할 수 있도록 서열이 충분히 상보성일 것이 필요하다.

[0101] DNA 혼성화를 촉진하는 적절한 엄격성 조건, 예를 들어 약 45°C에서의 6.0 X 염화나트륨/시트르산나트륨 (SSC), 이어서 50°C에서의 2.0 X SSC 세척은 당업자에게 알려져 있거나 또는 문헌 [Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6]에서 찾아볼 수 있다. 일부 실시양태에서, 혼성화 조건은 고, 중등 또는 저 엄격성 조건일 수 있다. 바람직한 조건은 50% 포름아미드, 5.0 X SSC, 1% SDS 및 42°C에서 14시간 인큐베이션, 이어서 0.2 X SSC, 1% SDS를 사용한 세척 및 65°C에서의 인큐베이션을 사용하는 것을 포함한다.

[0102] 혼성화의 특이성은 혼성화 후 세척에 의해 영향받을 수 있다. 예를 들어, 세척 단계에서 염 농도는 50°C에서의 약 2.0 X SSC의 저 엄격성 내지 50°C에서의 약 1.0 X SSC의 중등 엄격성 내지 50°C에서의 약 0.2 X SSC의 고 엄격성에서 선택될 수 있다. 또한, 세척 단계의 온도는 실온, 약 22°C의 저 엄격성 조건에서, 약 50°C의 중등 엄격성 조건으로, 또한 약 65°C의 고 엄격성 조건으로 증가될 수 있다. 온도 및 염 농도는 모두 상이할 수 있거나, 다른 변수는 변하면서 온도 또는 염 농도는 일정하게 유지될 수 있다. 일부 측면에서, 세척 단계는 5, 10, 15, 20, 25, 30분, 또는 그 초과 시간 동안 수행될 수 있다. 또 다른 측면에서, 세척 단계는 약 20분 동안 수행된다. 또 다른 측면에서, 세척 단계는 선택된 염 농도, 온도, 및 시간을 사용하여 1, 2, 3, 4회, 또는 그 초과 횟수로 반복될 수 있다. 또 다른 측면에서, 세척 단계는 2회 반복된다.

[0103] 식물의 유전자 마커 프로파일은 동계교배를 사용하여 생산된 교잡종의 작물학상 형질을 예측할 수 있다. 예를 들어, 기지의 유전자 마커 프로파일 및 표현형의 동계교배 식물이 기지의 유전자 마커 프로파일 및 표현형의 제 2 동계교배 식물과 교배될 경우, 모 동계교배 식물들의 조합된 유전자 마커 프로파일을 기초로 하여 F₁ 교잡종의 표현형을 예측할 수 있다. 유전자 마커 데이터로부터 교잡종 성과를 예측하기 위한 방법은 그 개시내용 전부가 본원에 참고로 구체적으로 포함된 미국 특허 번호 5,492,547에 개시되어 있다. 상기 예측은 임의의 적합한 유전자 마커, 예를 들어, SSR, INDEL, RFLP, AFLP, SNP, ISSR, 또는 동중효소 (isozyme)를 사용하여 시행될 수 있다.

[0104] DM 저항성에 유전적으로 연관되거나 상호관련된 추가의 마커, 예를 들어 SSR, AFLP 마커, RFLP 마커, RAPD

마커, 표현형 마커, SNP, 동종효소 마커, 또는 마이크로어레이 전사 프로파일이 이용될 수 있다 (문헌 [Walton, Seed World 22-29 (July, 1993)]; [Burow and Blake, Molecular Dissection of Complex Traits, 13-29, Eds. Paterson, CRC Press, New York (1988)]). 그러한 마커를 단리하고 그러한 마커의 존재를 추적할 때 유용한 프로브 또는 프라이머를 설계하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 좌위-특이적 SSR은 SSR에 대해 오이 게놈 라이브러리를 스크리닝하고, "양성" 클론을 서열분석하고, 반복체에 플랭킹하는 프라이머를 설계하고, 게놈 DNA를 상기 프라이머로 증폭함으로써 얻을 수 있다. 마찬가지로, SNP 마커도 또한 확인될 수 있다.

[0105] 마커 분자의 DM 저항성에 대한 유전자 연관은 유전자 맵핑 모델, 비제한적인 예로서 플랭킹 마커 모델, 및 문헌 [Lander and Botstein, 1989 (Genetics, 121:185-199)]에 기재되고 소프트웨어 패키지 MAPMAKER (화이트헤드 인스티튜트 포 바이오메디칼 리써치 (Whitehead Institute for Biomedical Research, 미국 매사추세츠주 캠브리지)) 또는 QTL 카르토그래퍼 (노쓰 캐롤라이나 스테이트 유니버시티 바이오인포매틱스 리써치 센터 (North Carolina State University, Bioinformatics Research Center) 등으로 실행되는 최대 가능성 방법을 기초로 한 간격 맵핑에 의해 확립될 수 있다.

[0106] 마커의 존재에 대한 최대 가능성 추정 (MLE)은 위양성을 방지하기 위해 형질 효과를 가정하지 않는 MLE와 함께 계산된다. 이어서, 교차비 (odds ratio)의 $\log_{10}$ (LOD)이 다음과 같이 계산된다: $LOD = \log_{10}$ (형질의 존재에 대한 MLE (연관된 형질의 부재시의 MLE)).

[0107] LOD 점수는 본질적으로 그의 부재시보다 저항성 대립유전자의 존재를 가정하여 데이터가 얼마나 더 많이 발생하는지를 나타낸다. 제시된 신뢰도, 즉 95%에서 위양성을 방지하기 위한 LOD 역치 값은 마커의 수 및 게놈의 길이에 의해 결정된다. LOD 역치를 나타내는 그래프는 문헌 [Lander and Botstein (1989)]에 제시되고, 문헌 [Ars and Moreno-Gonzalez, Plant Breeding, Hayward, Rosemark, Romagosa (eds.) Chapman & Hall, London, pp. 314-331 (1993)], 및 [van Ooijen (Heredity 83:613-624, 1999)]에 추가로 기재되어 있다.

[0108] 적절한 맵핑 또는 분리 집단의 선택이 형질 맵핑에 중요하다. 적절한 맵핑 집단의 선택은 사용된 마커 시스템의 종류에 따라 결정된다 (Tanksley et al., Molecular mapping plant chromosomes. Chromosome structure and function: Impact of new concepts J. P. Gustafson and R. Appels (eds.), Plenum Press, New York, pp. 157-173 (1988)). 맵핑 집단에 사용된 모식물체 (적응종 대 외래종)의 공급원을 고려하여야 한다. 염색체 페어링 및 재조합 비율은 원연 (wide) 교배 (적응종 x 외래종)에서 심하게 방해 (억제)될 수 있고, 일반적으로 크게 감소된 연관 거리를 생성할 수 있다. 원연 교배는 대체로 근연 교배 (적응종 x 적응종)시의 자손체에 비해 비교적 넓은 집합체의 다형성을 분리 집단에 제공할 것이다.

[0109] 우수한 육종 식물주를 육종 프로그램으로부터 수집한다. 이들은 그의 표현형 (예를 들어, DM에 대한 그의 질병 점수 반응)에 대해 시험되고, DM QTL 간격에서 마커에 대해 유전자형을 결정한다. 이들 데이터로부터, 가장 작은 유전적 간격은 DM 저항성 식물주 중에서 공여자 모식물체 (DP)의 바람직한 대립유전자를 함유하는 각각의 QTL 내에서 확인된다. 상기 간격은 DM에 대한 저항성을 부여하기 위해 중요한 것으로 추정된다. DM 저항성과 연관된 후보 유전자 간격은 동일한 생식질 분류 타입 (GCT)으로부터의 DM 감수성 샘플의 기준선 세트에 비해 DM 저항성 공여자 PI197088로부터의 바람직한 대립유전자의 향상된 빈도를 보이는 영역으로서 검출되었다. 예를 들어, 단일 GCT 및 단일 육종 프로그램 내의 DM 저항성 및 감수성 동계교배체를 비교할 수 있다. 표현형 클래스 사이의 대립유전자 빈도 변화는 다음과 같이 연관 평가 점수 (LAS)를 계산함으로써 검출될 수 있다: $LAS = (\text{바람직한 표현형을 갖는 샘플 내의 바람직한 대립유전자의 빈도}) \times (\text{바람직하지 않은 표현형을 갖는 샘플 내의 바람직하지 않은 대립유전자의 빈도})$.

[0110] 본원에서 사용될 때, 자손체는 비제한적으로 두 식물 사이의 임의의 교배 (역교배 또는 다른 교배) 생성물뿐만 아니라, 그의 계통의 기원이 본래의 교배체로 거슬러 올라가는 모든 자손체도 포함한다. 구체적으로, 비제한적으로 상기 자손체는 본래 교배된 2개의 식물 중의 하나부터 유래된 50%, 25%, 12.5% 또는 그 미만의 핵 DNA를 갖는 식물을 포함한다. 본원에서 사용될 때, 제2 식물의 계통이 제1 식물을 포함할 경우, 제2 식물은 제1 식물로부터 유래된다.

[0111] 본 발명은 본원에서 기재되는 오이 식물주의 유전자 상보체를 제공한다. 또한, 본원에서 기재되는 최상급 동계 교배 오이 식물주로부터의 일배체 유전자 상보체 및 또 다른 일배체 유전자 상보체의 조합에 의해 형성되는 교잡종 유전자 상보체가 제공된다. 상기 유전자 상보체를 결정하기 위한 수단은 당업계에 잘 알려져 있다.

[0112] 본원에서 사용될 때, 문구 "유전자 상보체"는 그의 발현에 의해 식물, 예를 들어 씨, 사티부스 오이 식물 또는

이 식물의 세포 또는 조직의 표현형이 규정되는 뉴클레오티드 서열의 집합체를 의미한다. 예로서, 그가 소유하는 유전된 마커의 대표적인 샘플을 결정하기 위해 씨, 사티부스 오이 식물의 유전자형을 결정한다. 마커는 바람직하게는 공동우성 방식으로 유전되고, 그에 따라서, 이배체 좌위에서 두 대립유전자의 존재는 쉽게 검출가능하고, 이들에 환경적 변이가 존재하지 않는데, 즉, 이들의 유전율은 1에 가깝거나 1이다. 상기 유전자형 결정은 바람직하게는 관심있는 형질 또는 형질들의 수치가 또한 결정되는 후손 식물의 적어도 하나의 세대에 대해 수행된다. 단일 좌위 유전자형의 집합체는 이배체 식물의 각각의 좌위에서 두 마커 대립유전자의 프로파일로서 표현된다. 각각의 좌위의 마커 대립유전자 조성은 동형접합성 또는 이형접합성일 수 있다. 동형접합성은 한 좌위의 두 대립유전자가 한 좌위에서 게놈의 동일한 조건 (예를 들어, 동일한 뉴클레오티드 서열)에서 특성화되는 조건이다. 이형접합성은 한 좌위에서 게놈의 상이한 조건을 의미한다. 잠재적으로 임의의 종류의 유전자 마커, 예를 들어, 단일 서열 반복체 (SSR), 삽입/결실 다형성 (INDEL), 제한 단편 길이 다형성 (RFLP), 증폭된 단편 길이 다형성 (AFLP), 단일 뉴클레오티드 다형성 (SNP), 및 동종효소를 사용할 수 있다.

[0113] 완전히 분류된 F_2 집단으로부터 공동우성 마커 시스템을 이용하여 고려할 수 있는 유전 정보를 얻을 수 있다 (Mather, Measurement of Linkage in Heredity: Methuen 및 Co., (1938)). F_2 집단은 교잡종 종자가 생산된 후, 자가 또는 형매 (sib) 수분의 제1 세대이다. 대체로, 단일 F_1 식물은 자가 또는 형매 수분되어, 핵 코딩 유전자에 대해 멘델 (Mendelian) (1:2:1) 방식으로 분리되는 집단을 생성한다.

[0114] 공동우성 마커의 사용과 반대로, 우성 마커의 사용은 종종 이형접합성 개체를 확인하기 위해 자손체 시험 (예를 들어, F_3 또는 역교배 또는 자가수정 패밀리)을 필요로 한다. 수집된 정보는 완전히 분류된 F_2 집단에서 얻은 것과 동등할 수 있다. 그러나, 상기 절차는 종종 자손체 시험에 수반되는 비용 및 시간 때문에 실행될 수 없다. F_2 개체의 자손체 시험은 종종 오류가 단일 식물 표현형 결정과 연관되거나, 또는 유전자형 결정을 위한 식물 선택이 정확한 표현형 결정을 수행하는 능력에 영향을 주거나, 또는 형질 발현이 QTL에 의해 제어되는 지도 작성에 사용된다. 자손체 시험 집단 (예를 들어, F_3 또는 역교배 또는 자가수정 패밀리)으로부터의 분리 데이터는 형질 맵핑에 사용될 수 있다. 이어서, 마커-보조 선택은 마커-형질 지도 관련성을 기초로 하여 후속 자손체 (F_2 , F_3)에 적용될 수 있고, 여기서 연관은 재조합 사건에 의해 완전히 비관련되는 것은 아니다 (즉, 최대 불균형).

[0115] 재조합 동계교배 식물주 (RIL) (유전적으로 관련된 식물주; 대체로 $> F_3$)가 맵핑 집단으로서 사용될 수 있다. RIL은 F_2 식물을 자가수정시키고, 이어서 생성되는 F_3 식물을 자가수정시키고, 상기 세대 자가수정 과정을 반복하여 동형접합성을 증가시킴으로써 발생할 수 있다. 우성 마커로부터 얻어진 정보는 모든 좌위가 동형접합성이거나 또는 거의 동형접합성이기 때문에 RIL을 사용함으로써 최대화될 수 있다. 밀접한 연관 (즉, 약 $< 10\%$ 재조합) 조건 하에, RIL 집단에서 평가된 우성 및 공동우성 마커는 역교배 집단에서 어느 마커 종류보다 개체당보다 많은 정보를 제공한다 (예를 들어, 문헌 [Reiter et al, 1992; Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 89:1477-1481]). 그러나, 마커 사이의 거리가 보다 멀어지면서 (즉, 좌위가 보다 독립적으로 되면서), RIL 집단의 정보는 공동우성 마커에 비해 크게 감소한다.

[0116] 역교배 집단은 맵핑 집단으로서 이용될 수 있다. 역교배 집단 (BC)은 F_1 을 그의 모식물체 중의 하나와 교배함으로써 생성될 수 있다. 일반적으로, 역교배 집단은 종종 공여자로서 언급되는 제2 모식물체로부터의 하나 또는 몇몇의 형질을 추가하면서, 재발성 모식물체 (역교배에 사용되는 모식물체) 중의 하나로부터 바람직한 형질 (대부분의 유전자를 포함할 수 있음)을 회수하기 위해 생성된다. 대부분의 재발성 모식물체의 바람직한 형질을 회수하기 위해 재발성 모식물체에 대한 일련의 역교배를 수행할 수 있다. 따라서, 재발성 모식물체와 거의 유사한 개체로 구성되는 집단이 생성되고, 여기서 각각의 개체는 공여자 모식물체로부터의 게놈 영역의 상이한 양 또는 모자이크를 보유한다. 역교배 집단은 특히 재발성 모식물체 내의 모든 좌위가 동형접합성이고 공여자 및 재발성 모식물체가 대조적인 다형성 마커 대립유전자를 갖는다면, 우성 마커의 맵핑에 유용할 수 있다 (Reiter et al., 1992; Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 89:1477-1481).

[0117] 공동우성 또는 우성 마커를 사용하여 역교배 집단으로부터 얻어진 정보는 완전히 분류된 F_2 집단으로부터 얻은 정보보다 적은데, 그 이유는 2개보다는 1개의 생식자 (gamete)를 수반하는 재조합 사건이 식물당 샘플링되기 때문이다. 그러나, 역교배 집단은 연관된 좌위 사이의 거리가 RIL 집단 (즉, 약 15% 재조합)에서 증가하기 때문에 RIL에 비교할 때 보다 많은 정보를 제공한다 (낮은 마커 포화도에서). 증가된 재조합은 밀접한 연관의 분석

에 유용하지만, 낮은 마커 포화도에서 지도 구축에는 바람직하지 않을 수 있다.

- [0118] 조사 중인 형질 또는 계통 영역을 제외하고 유전자 조성에서 거의 동일한 일군의 개체를 생산하기 위해 많은 역교배에 의해 생성된 근-유사유전자형 식물주 (NIL)가 맵핑 집단으로서 사용될 수 있다. NIL을 사용한 맵핑에서, 모식물체 사이의 좌위 다형성의 일부만이 고도로 동형접합성인 NIL 집단에서 분리될 것으로 예상된다. 그러나, NIL 집단에서 다형성인 좌위는 관심있는 형질에 연관될 가능성이 있다.
- [0119] 집단 분리 분석 (BSA)은 마커 및 관심있는 형질 사이의 연관성의 신속한 확인을 위해 개발된 방법이다 (Michelmore, et al., 1991; Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 88:9828-9832). BSA에서, 2개의 큰 DNA 샘플을 단일 교배로부터 유래하는 분리 집단으로부터 얻는다. 상기 큰 샘플은 특정 형질 (예를 들어, 특정 병원체에 대해 저항성 또는 감수성) 또는 계통 영역에서 동일하지만 비연관 영역에서는 임의의 것인 개체 (즉, 이형접합성)를 포함한다. 표적 형질에 연관되지 않은 영역은 BSA에서 많은 개체의 큰 샘플 사이에서 상이하지 않을 것이다.
- [0120] 다른 측면에서, 본 발명은 (a) DM 저항성을 갖는 오이 식물주를 DM 저항성이 결여된 제2 오이 식물주와 교배하여 분리 집단을 형성하고; (b) 이 집단을 DM 저항성에 대해 스크리닝하고; (c) 상기 DM 저항성을 갖는 집단의 하나 이상의 구성원을 선택하는 것을 포함하는, DM 저항성 오이 식물의 생산 방법을 제공한다. 하나의 측면에서, DM 저항성을 갖는 오이 식물주는 적어도 2개의 세대 (예를 들어, F_2 또는 BC_1S_1 집단의 생성)를 위해 제2 오이 식물주와 교배된다. 특정 실시양태에서, DM 저항성을 갖는 오이 식물주는 PI197088, 또는 그의 자손체이다. 또 다른 측면에서, 식물은 교배 전에 DM 저항성으로 확인된다. 하나의 측면에서, 식물은 DM에 대한 부분적인 또는 완전한 저항성을 기초로 하여 선택될 수 있다. 하나의 측면에서, 분리 집단을 자가-교배하고, 후속 집단을 저항성에 대해 스크리닝한다.
- [0121] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (a) DM 저항성을 갖는 적어도 제1 오이 식물주를 제2 오이 식물주와 교배하여 분리 집단을 형성하고; (b) 상기 집단을 DM 저항성에 대해 스크리닝하고; (c) 상기 DM 저항성을 보이는 집단의 적어도 하나의 구성원을 선택하는 것을 포함하는, DM 저항성 오이 식물 내로 유전자이입하는 방법을 제공한다. 하나의 측면에서, DM 저항성을 갖는 오이 식물주는 적어도 2개의 세대 (예를 들어, F_2 또는 BC_1S_1 집단의 생성) 또는 2-10 세대까지를 위해 제2 오이 식물주와 교배된다. 또 다른 측면에서, 식물은 교배 전에 DM 저항성으로 확인된다. 하나의 측면에서, 분리 집단은 자가-교배되고, 후속 집단은 저항성에 대해 스크리닝된다.
- [0122] 또한, 본 발명의 방법을 사용하여 생성된 오이 식물 (및 종자, 화분, 및 배주를 비롯한 그의 일부)이 제공되고, 이는 육종 프로그램의 일부이거나 이로부터 생성될 수 있다. 육종 방법의 선택은 식물 생식 방식, 개선되는 형질(들)의 유전율, 및 상업적으로 사용되는 재배종의 종류 (예를 들어, F_1 교잡종 재배종, 순계 재배종 등)에 의해 결정된다. 본 발명의 식물의 육종을 위해 선택된 비제한적인 방법을 아래에서 제시한다. 육종 프로그램은 임의의 교배의 자손체에 대한 마커 보조 선택을 사용하여 향상될 수 있다. 또한, 임의의 상업적 및 비-상업적 재배종이 육종 프로그램에 이용될 수 있음이 이해된다. 예를 들어, 선택은 일반적으로 출아력, 성장 활력, 스트레스 저항성, 질병 저항성, 분기, 개화, 열매 크기, 열매 품질, 및/또는 과실 수량과 같은 인자를 기초로 하여 결정될 것이다.
- [0123] 고유전성 형질에 대해, 단일 위치에서 평가된 우수한 개체 식물의 선택이 효과적인 것이나, 저유전율의 형질에 대해서는 선택은 관련 식물의 패밀리의 반복 시험 평가로부터 얻은 통계적 분석 (예를 들어, 평균값)을 기초로 하여야 한다. 인기있는 선택 방법은 통상적으로 계통 선택, 변형된 계통 선택, 집단 선택, 및 재발성 선택을 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 역교배 또는 재발성 육종 프로그램이 시행된다.
- [0124] 유전의 복잡성은 육종 방법의 선택에 영향을 준다. 역교배 육종은 고유전성 형질에 바람직한 하나 또는 수개의 유전자를 바람직한 재배종 내로 전달하기 위해 사용될 수 있다. 상기 접근법은 질병-저항성 재배종의 육종을 위해 광범하게 사용되었다. 다양한 재발성 선택 기술은 수많은 유전자에 의해 제어되는 정량적으로 유전된 형질을 개선하기 위해 사용된다. 자가수분 작물에서 재발성 선택의 사용은 수분 용이성, 각각의 수분으로부터의 성공적인 교잡종의 빈도, 및 각각의 성공적인 교배로부터의 교잡종 자손의 수에 의해 결정된다.
- [0125] 육종 식물주는 2개 이상의 세대에 대해 상업적인 표적 영역(들)의 대표적인 환경에서 시험되고 적절한 표준물과 비교될 수 있다. 최적 식물주는 새로운 상업적인 재배종을 위한 모식물체의 후보이고; 형질이 계속 결핍된 식물주는 교잡종에 대한 모식물체로서, 또는 추가의 선택을 위한 새로운 집단을 생성하기 위해 사용될 수 있다.
- [0126] 우수한 식물을 확인하는 한 방법은 그의 성과를 다른 실험 식물 및 널리 재배되는 표준물 재배종과 비교하여 관

찰하는 것이다. 단일 관찰을 통해 결론에 이르지 못할 경우에는, 반복 관찰이 그의 유전적 가치에 대한 보다 우수한 평가를 제공할 수 있다. 재배자는 2개 이상의 모식물주를 선택하여 교배한 후, 반복된 자가 또는 형매 수분 및 선택을 수행하여 많은 새로운 유전자 조합을 생성할 수 있다.

[0127] 새로운 오이 식물주의 개발은 오이 변종의 개발 및 선택, 이들 변종의 교배 및 우수한 교잡종 교배체의 선택을 필요로 한다. 교잡종 종자는 선택된 웅성-불임 모식물체 사이의 인위적인 교배에 의해 또는 웅성 불임 시스템을 사용하여 생산될 수 있다. 교잡종은 종자가 실제로 교잡종임을 나타내는 특정 단일 유전자 형질, 예를 들어 꽃 색상, 종자 수량 또는 제초제 저항성에 대해 선택될 수 있다. 모식물주에 대한 추가의 데이터, 및 교잡종의 표현형이 특정 교잡종 교배의 지속 여부에 대한 재배자의 결정에 영향을 준다.

[0128] 계통 육종 및 재발성 선택 육종 방법은 육종 집단으로부터 재배종을 개발하기 위해 사용될 수 있다. 육종 프로그램은 2개 이상의 재배종 또는 다양한 광범위한 공급원으로부터의 바람직한 형질을, 자가수정 및 모식물주 내로의 목적하는 표현형의 선택에 의해 그로부터 재배종이 개발되는 육종 풀(pool)과 조합한다. 이들 식물주는 새로운 재배종을 생산하기 위해 사용된다. 새로운 재배종은 상업적인 잠재성을 갖는지를 결정하기 위해 평가될 수 있다.

[0129] 자가-수분하는 작물의 개선을 위해 계통 육종이 일반적으로 사용된다. 바람직한 보완 형질을 갖는 2개의 모식물체를 교배하여 F_1 을 생산한다. F_2 집단은 하나 또는 수개의 F_1 을 자가수정함으로써 생산한다. 최적 패밀리에서 최적 개체의 선택을 수행한다. 패밀리의 반복 시험은 유전율이 낮은 형질에 대한 선택의 효과를 개선하기 위해 F_4 세대에서 시작할 수 있다. 동계교배의 진행기(즉, F_6 및 F_7)에서, 최적 식물주 또는 표현형이 유사한 식물주의 혼합종이 새로운 재배종으로서 사용될 잠재력에 대해 시험된다.

[0130] 역교배 육종 및 교배 육종은 간단히 유전되는 고유전성 형질을 위한 유전자를 재발성 모식물체인 바람직한 동형 접합성 재배종 또는 동계교배 식물주 내로 전달하기 위해 사용되었다. 전달할 형질의 공급원은 공여자 모식물체로 불린다. 성공적인 역교배 프로그램으로부터 얻은 생성되는 식물은 재발성 모식물체(예를 들어, 재배종)의 특성 및 공여자 모식물체로부터 전달되는 바람직한 형질을 가질 것으로 예상된다. 초기 교배 후에, 공여자 모식물체의 표현형을 갖는 개체를 선택하고, 재발성 모식물체에 반복적으로 교배(역교배)한다. 선택과 다수의 역교배 세대 후에, 생성되는 식물주는 재발성 모식물체(예를 들어, 재배종)의 특성 및 공여자 모식물체로부터 전달되는 바람직한 형질을 가질 것으로 예상된다.

[0131] 다른 모식물체(제2 오이 식물)가 DM 저항성이거나 다른 모식물체가 DM 저항성이 아닌 경우에, DM 저항성 오이 식물의 교배 육종 또는 역교배 육종을 수행할 수 있다.

[0132] 본 발명의 생성된 오이 식물은 단립 계통 육종(single seed descent) 절차를 사용하여 생성될 수 있다. 단립 계통 육종 절차는 엄격한 의미에서, 분리 집단을 심고, 이어서 자가수정하고 다음 세대를 생성하기 위해 본 세대 및 각각의 후속 세대에서 하나의 식물을 선택하는 것을 의미한다. 집단이 F_2 로부터 동계교배의 목적하는 수준으로 진행될 때, 식물주가 그로부터 유래되는 식물은 각각 상이한 F_2 개체로 거슬러 추적된다. 집단 내의 식물의 수는 일부 종자의 발아 또는 적어도 하나의 종자를 생산하는 일부 식물의 실패 때문에 감소한다. 그 결과, 집단에서 본래 샘플링된 모든 F_2 식물이, 세대 진행이 완료될 때 자손체에 의해 제시되지 않는 것이다.

[0133] 상이한 형질 및 작물에 대해 통상 사용되는 다른 육종 방법에 대한 설명은 이용가능한 여러 참고 문헌 중의 하나에서 볼 수 있다(예를 들어, 문헌 [Fehr, Principles of Cultivar Development Vol. 1, pp. 2-3 (1987)]).

[0134] 본 발명의 하나의 측면에서, 육종 프로그램에 사용하기 위한 DM 저항성 형질의 공급원은 미국 특허 출원 공개 2009-0265083에 기재된 바와 같은 PI197088, ASL147-2027, EUR154-1012GY, EUR154-1021GY, GSP33-1094GY, GPN33-1093GY, 03/8020-20_TUP03_DMFL_1, 03/8024-19_TUP03_DMFL_1, 및 03/8039-5_TUP03_DMFL_1 및 그의 DM 저항성 자손체로 이루어지는 군 중에서 선택되는 식물로부터 유래된다. 또 다른 측면에서, 육종 프로그램에 사용하기 위한 DM 저항성 형질의 공급원은 PI197088, ASL147-2027, EUR154-1012GY, EUR154-1021GY, GSP33-1094GY, GPN33-1093GY, 03/8020-20_TUP03_DMFL_1, 03/8024-19_TUP03_DMFL_1, 및 03/8039-5_TUP03_DMFL_1, 및 그의 DM 저항성 자손체로 이루어지는 군 중에서 선택되는 식물로부터 유래된 것이 아니다.

[0135] 본 발명의 또 다른 측면은 DM에 대한 저항성을 갖는 동계교배 오이 식물에 관한 것이고, 여기서 상기 저항성은 상기 식물이 상기 DM과 접촉할 때 보이고, 상기 오이 식물은 ASL147-2027, EUR154-1012GY, EUR154-1021GY, GSP33-1094GY, GPN33-1093GY, 03/8020-20_TUP03_DMFL_1, 03/8024-19_TUP03_DMFL_1, 및 03/8039-5_TUP03_DMFL_1로 이루어지는 군 중에서 선택되는 식물로부터 유래된 것이 아니다. 또한, DM에 대한 저항성을

부여하는 유전자 좌위를 포함하는 게놈을 갖는 오이 식물이 본 발명에 포함되고, 여기서 상기 유전자 좌위는 DM에 대한 저항성을 부여하는 상기 유전자 좌위에 연관된 하나 이상의 유전자 마커를 함유하고, 상기 오이 식물은 기탁번호 PI197088이 아니다.

- [0136] 또 다른 측면에서, 육종 프로그램에 사용하기 위한 DM 저항성의 추가의 공급원은 DM 저항성에 대해 오이 생식질을 스크리닝함으로써 확인될 수 있다. 또 다른 측면에서, 오이 식물은 접종 또는 감염 후에 대조 오이 식물에 비해 감소된 질병 증상을 보이는 생식질을 확인함으로써 DM 저항성에 대해 스크리닝될 수 있다. 하나의 측면에서, 오이 식물은 실시예 1, 실시예 2, 또는 실시예 8에서 기재되는 바와 같이 노지 또는 온실 스크린 및 질병 등급 표시 방식과 같은 시험을 사용하여 DM 저항성에 대해 스크리닝될 수 있다.
- [0137] 또 다른 측면에서, 육종 프로그램에 사용하기 위한 DM 저항성의 추가의 공급원은 DM에 대한 저항성을 부여하는 유전자 좌위에 연관된 하나 이상의 분자 마커, 예를 들어 본원에서 확인되는 것을 사용한 스크리닝에 의해 확인될 수 있다.
- [0138] 또 다른 측면에서, 육종 프로그램에 사용하기 위한 DM 저항성의 추가의 공급원은 감소된 질병 증상에 대해 오이 식물을 스크리닝한 후, DM에 대한 저항성에 기여하는 유전자 좌위에 연관된 하나 이상의 분자 마커를 사용한 스크리닝의 조합에 의해 확인될 수 있다.
- [0139] 또 다른 측면에서, DM 저항성을 갖는 오이 식물주는 DM 저항성을 관심있는 추가의 형질과 조합하기 위해 육종 프로그램에 사용될 수 있다. 하나의 측면에서, DM 저항성은 질병 저항성 형질, 수율 형질, 및 열매 품질 형질을 비롯한 임의의 추가의 형질과 조합될 수 있다. 예를 들어, 육종 프로그램은 DM 저항성 형질을 오이 열매의 크기 및 형태에 기여하는 대립유전자와 조합하기 위해 사용될 수 있다. 또한, 육종 프로그램은 DM 저항성을 하나 이상의 질병 저항성 형질과 조합하기 위해 사용될 수 있다. 상기 질병 저항성 형질은 비제한적으로 청고병, 뿌리혹 선충, 담배 모자이크 바이러스, 오이 검은별무늬병, 흰가루병, 갈색윤반병, 오이 모자이크 바이러스, 및 시들음병에 대한 저항성을 포함한다. 또 다른 측면에서, 조합되는 형질은 후속 교배체에서 공동으로 유전될 수 있다.
- [0140] 본 발명은 또한 본 발명의 방법에 의해 생산된 DM 저항성 오이 식물의 일부를 제공한다. 오이 식물의 일부는 비제한적으로 식물 세포 또는 식물 세포의 일부, 종자, 배젖, 분열조직, 꽃, 꽃밥, 배주, 화분, 열매, 꽃, 줄기, 뿌리, 줄기 또는 잎, 접순, 및 근경을 포함한다. 식물의 일부는 태좌, 과축 및 과피를 포함하는 오이 열매의 일부를 또한 포함한다. 본 발명의 하나의 실시양태에서, 식물의 일부는 종자이다.
- [0141] 본 발명은 오이 식물에서 DM 저항성을 생성시키는 적어도 하나의 유전자 좌위를 포함하는 게놈을 갖는 오이 식물의 일부를 추가로 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 오이 식물의 일부는 미국 특허 출원 공개 2009-0265083에 기재된 기탁된 오이 식물주로 이루어지는 군 중에서 선택되는 오이 식물, 및 그의 DM 저항성 자손체로부터 유래한다. 본 발명의 한 측면에 따르면, 기탁된 식물주 ASL147-2027, EUR154-1012GY, EUR154-1021GY, GSP33-1094GY, GPN33-1093GY, 03/8020-20_TUP03_DMFL_1, 03/8024-19_TUP03_DMFL_1, 및 03/8039-5_TUP03_DMFL_1의 생리학적 및 형태학적 특징을 아래 표 1-8에 제시한다.

표 1

식물주 ASL147-2027 Mo의 생리학적 및 형태학적 특징.

	특징	ASL147-2027
1.	종류	오이
	주된 용도	슬라이스용
	주된 재배	노지
	미국에서 최상의 적응 지역	대부분의 지역
2.	성숙도	
	과중에서 시판까지의 일수	50-55
3.	식물	
	습성	덩굴
	생장	무한생장
	성별	자웅동주
	꽃 색상	화색
4.	식용 성숙기의 열매	
	열매 목 형태	목이 없음
	열매 가늘어짐	끝이 무디거나 둥글음
	껍질 두께	두꺼움
	껍질 끝	골집
	껍질의 질긴 정도	질긴
	껍질 광택	흐릿함
	가시 색상	백색
	가시 품질	거칠
	가시 밀도	적음
	맛	쓴맛이 없음
5.	곤충 저항성	
	진딧물 (에피스 고시피이 (<i>Aphis gossypii</i>))	감수성

[0142]

표 2

식물주 EUR154-1012 GY의 생리학적 및 형태학적 특징.

	특징	EUR 154-1012 GY
1.	종류	오이
	주된 용도	생식용
	주된 재배	온실
	미국에서 최상의 적응 지역	스페인
2.	성숙도	
	과중에서 시판까지의 일수	60-65
3.	식물	
	습성	덩굴
	생장	무한생장
	성별	자성계통
	꽃 색상	황색
4.	줄기	
	길이	150-200 cm
	마디간 길이	5-8 cm
	줄기 형태	모가 나 있음 (grooved-ridged)
5.	식용 성숙기의 열매	
	길이	30-32 cm
	내측에서 직경	45-50 mm
	중량	300-400 g
	껍질 색상	녹색
	황색을 띤 과정부 조각	없음
	줄기꼭지에서 주된 색상	균일한 녹색
	과정부에서 주된 색상	균일한 녹색
	열매 목 형태	중간
	열매 가늘어짐	둥글음
	줄기꼭지 단면	rd
	내측 단면	rd
	과정부 단면	rd
	껍질 두께	얇음
	껍질 골	골짐
	껍질의 질긴 정도	낮음
	껍질 광택	광택이 있음
	가시 색상	백색
	가시 품질	미세화
	가시 밀도	매우 낮음
	들기 (결절 (Wart))	없음
	맛	쓴맛이 없음
6.	수확 성숙기의 열매	
	길이	35-37 cm
	내측에서 직경	50-60 mm
	색상	황색
	색상 패턴	줄무늬
	표면	매끄러움
	그물모양 (Netting)	약간 있거나 없음
	착과	보통 종자가 없음
7.	종자	
	열매당 수	30-80
	1,000개 종자당	30-35 g

[0143]

8.	질병 저항성	
	오이 검은별무늬병 (황반병) (클라도스포룸 쿠쿠메리눔 (<i>Cladosporium cucumerinum</i>))	
	노균병	저항성
	흰가루병 (에리시페 시코라세아툼)	저항성
	오이 모자이크 바이러스	감수성
	오이 잎맥 황색화 바이러스	감수성
	오이 황색 위축병 바이러스	중간 저항성
9.	곤충 저항성	
	진딧물 (에피스 코시퍼이)	감수성

[0144]

표 3

식물주 EUR 154-1021 GY의 생리학적 및 형태학적 특징.

	특징	EUR 154-1021 GY
1.	종류	오이
	주된 용도	생식용
	주된 재배	온실
	미국에서 최상의 적응 지역	스페인
2.	성숙도	
	파종에서 시판까지의 일수	60-65
3.	식물	
	습성	덩굴
	생장	무한생장
	성별	자성계통
	꽃 색상	황색
4.	줄기	
	길이	150-200 cm
	마디간 길이	50-80 mm
	줄기 형태	모가 나 있음

[0145]

5.	식용 성숙기의 열매	
	길이	30-32 cm
	내측에서 직경	45-50 mm
	중량	300-400 g
	껍질 색상	녹색
	황색을 띤 과정부 조각	없음
	줄기꼭지에서 주된 색상	균일한 녹색
	과정부에서 주된 색상	균일한 녹색
	열매 목 형태	목이 없음
	열매 가늘어짐	둥글음
	줄기꼭지 단면	rd
	내측 단면	rd
	과정부 단면	rd
	껍질 두께	얇음
	껍질 골	골결
	껍질의 질긴 정도	낮음
	껍질 광택	광택이 있음
	가시 색상	백색
	가시 품질	미세화
	가시 밀도	낮음
	돌기 (결절)	없음
	맛	쓴맛이 없음
6.	수확 성숙기의 열매	
	길이	35-37 cm
	내측에서 직경	50-60 mm
	색상	황색
	색상 패턴	줄무늬
	표면	매끄러움
	그물모양	약간 있음
	착과	보통 종자가 없음
7.	종자	
	열매당 수	30-80
	1,000개 종자당	30-35 g
8.	질병 저항성	
	노균병	저항성
	흰가루병 (에리시페 시코라세아룸)	저항성
	오이 모자이크 바이러스	감수성
	오이 잎맥 황색화 바이러스	감수성
	오이 황색 위축병 바이러스	중간 저항성
9.	곤충 저항성	
	진딧물 (에피스 고시피이)	감수성

[0146]

표 4

식물주 GSP 33-1094 GY의 생리학적 및 형태학적 특징.

	특징	GSP 33-1094 GY
1.	종류	오이
	주된 용도	피클용
	주된 재배	노지
	미국에서 최상의 적응 지역	대부분의 지역
2.	성숙도	
	파종에서 시판까지의 일수	60-62
3.	식물	
	습성	덩굴
	생장	무한생장
	성별	100% 자성계통
	꽃 색상	황색
4.	줄기	
	길이	150-200 cm
	백잎에서 제1 암꽃을 가진 마디까지의 마디 수	3-4
	마디간 길이	20-30
	줄기 형태	모가 나 있음
5.	잎	제3 잎의 성숙한 잎면
	길이	200-250 mm
	폭	150-200 mm
	잎자루 길이	6.5-8

[0147]

6.	식용 성숙기의 열매	
	길이	12-14 cm
	내측에서 직경	35-45
	중량	80-120 g
	껍질 색상	얼룩덜룩하거나 또는 황색의 반점이 있음
	황색을 띤 과정부 조각	열매 길이의 1/3 미만으로 뺀어있음
	줄기꼭지에서 주된 색상	녹색
	과정부에서 주된 색상	연녹색 (아rlington (Arlington) 백색 가시)
	열매 목 형태	목이 없음
	열매 가늘어짐	끝이 무디거나 둥글음
	줄기꼭지 단면	사각형
	내측 단면	사각형
	과정부 단면	사각형
	껍질 두께	두꺼움
	껍질 골	골집
	껍질의 질긴 정도	연함
	껍질 광택	흐릿함
	가시 색상	백색
	가시 품질	미세함
	가시 밀도	많음
	돌기 (결절)	적고 돌출함 (생러드)
	맛	쓴맛이 없음
7.	수확 성숙기의 열매	
	길이	25-30 cm
	내측에서 직경	10-13
	색상	크림색
	색상 패턴	줄무늬 없음
	표면	매끄러움
	그물모양	약간 있거나 없음
	착과	단위결실
8.	종자	
	열매당 수	150-200
	1,000개 종자당	22-25 g
9.	질병 저항성	
	오이 검은별무늬병 (황반병) (클라도스포룸 쿠쿠메리눔)	감수성
	노균병	저항성
	흰가루병 (에리시페 시코라세아룸)	저항성
	갈색윤반병 (코리네스포라 캐시이콜라 (<i>Corynespora cassicola</i>))	감수성
	오이 모자이크 바이러스	저항성
10.	곤충 저항성	
	진딧물 (애피스 고시피이)	감수성

[0148]

표 5

식물주 GPN 33-1093 GY의 생리학적 및 형태학적 특징.

	특징	GPN 33-1093 GY
1.	종류	오이
	주된 용도	피클용
	주된 재배	노지
	미국에서 최상의 적응 지역	대부분의 지역
2.	성숙도	
	과중에서 시판까지의 일수	60-65
3.	식물	
	습성	덩굴
	생장	무한생장
	성별	주로 자성계통
	꽃 색상	황색
4.	줄기	
	길이	150-200 cm
	떡잎에서 제1 암꽃을 가진 마디까지의 마디 수	2-3
	마디간 길이	20-25
	줄기 형태	모가 나 있음
5.	잎	제3 잎의 성숙한 잎면
	길이	200-230 mm
	폭	150-200 mm
	잎자루 길이	4-8
6.	식용 성숙기의 열매	
	길이	11-13 cm
	내측에서 직경	35-45
	중량	80-120 g
	껍질 색상	얼룩덜룩하거나 또는 황색의 반점이 있음
	황색을 띤 과점부 조각	열매 길이의 1/3 미만으로 땀어있음
	줄기꼭지에서 주된 색상	녹색
	과점부에서 주된 색상	연녹색 (알링턴 백색 가시)
	열매 목 형태	목이 없음
	열매 가늘어짐	끝이 무디거나 둥글음
	줄기꼭지 단면	사각형
	내측 단면	사각형
	과점부 단면	사각형
	껍질 두께	두꺼움
	껍질 골	골짐
	껍질의 질긴 정도	연한
	껍질 광택	흐릿함
	가시 색상	백색
	가시 품질	미세함
	가시 밀도	적음
	돌기 (결절)	적고 돌출함 (샐러드)
	맛	쓴맛이 없음

[0149]

7.	수확 성숙기의 열매	
	길이	25-30 cm
	내측에서 직경	10-13
	색상	크림색
	색상 패턴	줄무늬
	표면	매끄러움
	그물모양	약간 있거나 없음
	작과	보통 종자를 가짐
8.	종자	
	열매당 수	150-200
	1,000개 종자당	22-25 g
9.	질병 저항성	
	오이 검은별무늬병 (황반병) (클라도스포룸 쿠쿠메리눔)	감수성
	노균병	저항성
	원가루병 (에리시페 시코라세아룸)	저항성
	감색유행병 (코리네스포라 캐시이폴라)	감수성
	오이 모자이크 바이러스	저항성
10.	곤충 저항성	
	진딧물 (에피스 코시피이)	감수성

[0150]

표 6

생리학적 및 형태학적 특징: 식물주 03/8020-20_TUP03_DMFL_1.

	특징	03/8020-20 TUP03 DMFL 1
1.	종류	오이
	주된 용도	생식용
	주된 재배	노지
	미국에서 최상의 적응 지역	터키 및 1/2 동부
2.	성숙도	
	파종에서 시판까지의 일수	60-65
3.	식물	
	습성	덩굴
	생장	무한생장
	성별	자웅동주
	꽃 색상	황색
4.	줄기	
	길이	150-200 cm
	마디간 길이	30-50 mm
	줄기 형태	모가 나 있음
5.	식용 성숙기의 열매	
	길이	12-15 cm
	내측에서 직경	35-45
	중량	80-120 g
	껍질 색상	녹색
	황색을 띤 과정부 조각	없음
	줄기꼭지에서 주된 색상	균일한 녹색
	과정부에서 주된 색상	균일한 녹색
	열매 목 형태	목이 없음
	열매 가늘어짐	끝이 무디거나 둥글음
	줄기꼭지 단면	rd
	내측 단면	rd
	과정부 단면	rd
	껍질 두께	얇음
	껍질 골	곰지지 않음
	껍질의 질긴 정도	낮음
	껍질 광택	광택이 있음
	가시 색상	백색
	가시 품질	미세함
	가시 밀도	높음
	들기 (결절)	없음
	맛	쓴맛이 없음

[0151]

6.	수확 성숙기의 열매	
	길이	18-20 cm
	내측에서 직경	30-45 mm
	색상	크림색
	색상 패턴	줄무늬
	표면	매끄러움
	그물모양	약간 있거나 없음
	착과	보통 종자를 가짐
7.	종자	
	열매당 수	150-200
	1,000개 종자당	22-25 g
8.	질병 저항성	
	오이 검은별무늬병 (황반병) (클라도스포류 쿠쿠메리눔)	저항성
	노균병 (슈도페로노스포라 쿠베시스)	저항성
	흰가루병 (에리시페 시코라세아툼)	감수성
	오이 모자이크 바이러스	감수성
9.	곤충 저항성	
	진딧물 (에피스 고시피이)	감수성

[0152]

표 7

생리학적 및 형태학적 특징: 식물주 03/8024-19_TUP03_DMFL_1.

	특징	03/8024-19 TUP03 DMFL 1
1.	종류	오이
	주된 용도	생식용
	주된 재배	노지
	미국에서 최상의 적응 지역	터키 및 1/2 동부
2.	성숙도	
	과중에서 시판까지의 일수	60-65
3.	식물	
	습성	덩굴
	생장	무한생장
	성별	자웅동주
	꽃 색상	황색
4.	줄기	
	길이	150-200 cm
	마디간 길이	30-50 mm
	줄기 형태	모가 나 있음
5.	식용 성숙기의 열매	
	길이	15-17 cm
	내측에서 직경	35-45
	중량	80-120 g
	껍질 색상	녹색
	황색을 띤 과정부 조각	없음
	줄기꼭지에서 주된 색상	균일한 녹색
	과정부에서 주된 색상	균일한 녹색
	열매 목 형태	목이 없음
	열매 가늘어짐	끝이 무더거나 둥글음
	줄기꼭지 단면	rd
	내측 단면	rd
	과정부 단면	rd
	껍질 두께	얇음
	껍질 골	골지지 않음
	껍질의 질긴 정도	낮음
	껍질 광택	광택이 있음
	가시 색상	백색
	가시 품질	미세함
	가시 밀도	낮음
	들기 (결절)	없음

[0153]

6.	수확 성숙기의 열매	
	길이	12-23 cm
	내측에서 직경	30-45 mm
	색상	크림색
	색상 패턴	줄무늬
	표면	매끄러움
	그물모양	약간 있거나 없음
	착과	보통 종자를 가진
7.	종자	
	열매당 수	150-200
	1,000개 종자당	22-25 g
8.	질병 저항성	
	오이 검은벨무늬병 (황반병) (클라도스포룸 쿠쿠메리눔)	감수성
	노균병	저항성
	회가루병 (에리시페 시코라세아룸)	중간 저항성
	오이 모자이크 바이러스	저항성
9.	곤충 저항성	
	진딧물 (에피스 고시피이)	감수성

[0154]

표 8

생리학적 및 형태학적 특징: 식물주 03/8039-5_TUP03_DMFL_1.

	특징	03/8039-5_TUP03_DMFL_1
1.	종류	오이
	주된 용도	생식용
	주된 재배	노지
	미국에서 최상의 적응 지역	터키 및 1/2 동부
2.	성숙도	
	파종에서 시판까지의 일수	60-65
3.	식물	
	습성	덩굴
	생장	무한생장
	성별	자웅동주
	꽃 색상	화색
4.	줄기	
	길이	150-200 cm
	마디간 길이	30-50 mm
	줄기 형태	모가 나 있음
5.	식용 성숙기의 열매	
	길이	16-18 cm
	내측에서 직경	35-45
	중량	80-120 g
	껍질 색상	녹색
	화색을 띤 과정부 조각	없음
	줄기꼭지에서 주된 색상	균일한 녹색
	과정부에서 주된 색상	균일한 녹색
	열매 목 형태	목이 없음
	열매 가늘어짐	끝이 무디거나 둥글음
	줄기꼭지 단면	rd
	내측 단면	rd
	과정부 단면	rd
	껍질 두께	얇음
	껍질 골	골지지 않음
	껍질의 질긴 정도	낮음
	껍질 광택	광택이 있음
	가시 색상	백색
	가시 품질	미세함
	가시 밀도	중간
	들기 (결절)	없음
	맛	쓴맛이 없음

[0155]

6.	수확 성숙기의 열매	
	길이	20-24 cm
	내측에서 직경	30-45 mm
	색상	크림색
	색상 패턴	줄무늬
	표면	매끄러움
	그물모양	약간 있거나 없음
	착과	보통 종자를 가짐
7.	종자	
	열매당 수	150-200
	1,000개 종자당	22-25 g
8.	질병 저항성	
	오이 검은별무늬병 (황반병) (클라도스포룸 쿠쿠메리눔)	저항성
	노균병	저항성
	흰가루병 (에리시페 시코라세아룸)	중간 저항성
	오이 모자이크 바이러스	감수성
9.	곤충 저항성	
	진딧물 (에피스 고시피이)	감수성

[0156]

[0157]

하나의 실시양태에서, 본 발명은 DM 저항성 오이 식물, 또는 그의 열매 또는 종자를 제공하고, 여기서 오이 식물은 DM의 접종 또는 감염 후에 비-저항성 대조군 식물에 비해 항백화 및/또는 괴저성 병변의 일 증상의 감소를 보이고, 상기 식물은 청고병, 뿌리혹 선충, 담배 모자이크 바이러스, 오이 검은별무늬병, 흰가루병, 갈색윤반병, 오이 모자이크 바이러스, 파파야 윤문병 바이러스, 주키니 황색 모자이크 바이러스, 및 시들음병 중 하나 이상에 대해 저항성을 보인다. 또 다른 실시양태에서, 이들 오이 식물 또는 그의 열매 또는 종자는 표 1-8에 기재된 식물주의 DM 저항성 자손체로부터 선택된다. 다른 실시양태에서, 청고병, 오이 검은별무늬병, 흰

가루병, 갈색윤반병, 오이 모자이크 바이러스, 선충, 담배 모자이크 바이러스 파파야 윤문병 바이러스, 주키니 황색 모자이크 바이러스, 및 시들음병 중 하나 이상에 대해 또한 저항성을 보이는 DM 저항성 오이 식물은 DM의 접종 또는 감염 후에 황백화 및/또는 괴저성 병변의 잎 증상의 10% 초과와 감소, 또는 30% 초과와 감소, 또는 60% 초과와 감소를 나타낸다. 일부 측면에서, 오이 식물은 온실 성장 또는 노지 성장을 위해 적응된다.

[0158] 본 발명의 한 측면은 DM 오이 식물, 또는 그의 열매 또는 종자를 제공하고, 여기서 오이 식물 또는 그의 열매는 DM 저항성에 추가로 1 또는 2 또는 3 또는 그 초과로 독립적으로 선택된 바람직한 형질을 나타낸다. 하나의 실시양태에서, "바람직한 형질(들)"은 열매 크기, 형태, 색상, 표면 외관; 종자 수, 종자 크기, 씨방 수; 과피 두께 및 질긴 정도; 맛, 쓴맛, 돌기의 존재, 및 저장 수명, 식물 활력, 잎 형태, 잎 길이, 잎 색상, 식물 높이, 식물의 유한 생장 여부, 성숙까지의 시간, 노지 성장 적응성, 온실 성장 적응성, 및 하나 이상의 질병 또는 질병 유발 유기체, 예를 들어 청고병, 뿌리혹 선충, 담배 모자이크 바이러스, 오이 검은별무늬병, 흰가루병, 담배 모자이크 바이러스, 오이 검은별무늬병, 흰가루병, 노균병, 갈색윤반병, 오이 모자이크 바이러스, 및 시들음병에 대한 저항성으로 이루어지는 군 중에서 선택된다. 또 다른 실시양태에서, "바람직한 형질(들)"은 열매 크기, 열매 형태, 열매 색상, 열매 맛, 열매당 종자의 수, 종자의 크기, 열매 과피 조직의 두께, 열매의 저장 수명, 청고병에 대한 저항성, 오이 검은별무늬병에 대한 저항성, 흰가루병에 대한 저항성, 갈색윤반병에 대한 저항성, 오이 모자이크 바이러스에 대한 저항성, 선충에 대한 저항성, 담배 모자이크 바이러스에 대한 저항성, 과파야 윤점 바이러스에 대한 저항성, 주키니 황색 모자이크 바이러스에 대한 저항성, 및 시들음병에 대한 저항성으로 이루어지는 군 중에서 선택된다. 또 다른 실시양태에서, "바람직한 형질(들)"은 열매 크기, 열매 형태, 열매 색상, 열매 맛, 열매의 저장 수명, 오이 검은별무늬병에 대한 저항성, 흰가루병에 대한 저항성, 갈색윤반병에 대한 저항성, 및 오이 모자이크 바이러스에 대한 저항성으로 이루어지는 군 중에서 선택된다. 또 다른 실시양태에서, "바람직한 형질(들)"은 열매 크기, 열매 형태, 열매 색상, 시장에서 허용되는 열매 품질, 및 열매의 저장 수명으로 이루어지는 군 중에서 선택된다.

[0159] 본 발명의 다른 측면에서, DM 저항성에 추가로 하나 이상의 바람직한 형질을 갖는 식물은 DM의 접종 또는 감염 후에 비-저항성 대조군 식물에 비해 황백화 및/또는 괴저성 병변의 잎 증상의 10% 초과 또는 30% 초과 또는 60% 초과 또는 80% 초과를 감소를 보인다. 본 발명의 또 다른 측면은 DM 저항성을 갖는 오이 식물주를 DM 저항성이 결여되지만 상기 언급한 바람직한 형질 중 하나 이상을 부여할 수 있는 제2 식물과 교배시키는 것을 포함하는 DM 저항성 오이 식물의 생산 방법에 관한 것이다.

[0160] 실시예

[0161] 실시예 1: 노균병 배양 및 질병 스크리닝 - 노지

[0162] 슈도페로노스포라 쿠벤시스 (Berk, et Curt.) 로스토우 (Rostow)는 편성 (obligate) 병원체이다. 따라서, 이것을 감수성 박과의 살아있는 식물에서 유지해야 한다. 본 연구에서 저장성에 대해 스크리닝하는데 2가지 단리물을 사용하였다. 피. 쿠벤시스의 "구형 (old)" 단리물은 호박 및 오이 모두에 대한 그의 병원성을 특징으로 한다. 피. 쿠벤시스의 "신형 (new)" 단리물은 호박에 대해서는 병원성으로 간주되지 않지만 오이에 대해서는 매우 병원성이다. 이 병원체는 포자형성이 풍부한 잎 또는 떡잎을 -80°C 에서 동결시킴으로써 저장하였다. 동결 과정에 내재하는 포자 생존력의 일부 손실이 있을 수 있지만, 일단 포자가 동결된 후 시간 경과에 따른 생존력 감소는 발견되지 않았다. 스프레더 (spreader) 숙주 식물을 노지에 이식하기 6주 전에, 감수성 오이 숙주를 제외한 환경 챔버 내에서 식재하였다. 제3주에, 이들에 -80°C 동결기 내에 저장한 감염된 잎에서 유래한 포자 현탁액을 접종하였다. 접종한 배양 식물을 20°C 에서 유지하고; 황백화 병변이 발생하면, 식물을 고습도 성장상 (dew chamber) 내에 밤새 넣어 포자형성을 유도하였다. 이 배양액을 식물을 노지로 이식할 때까지 오이에 매주 전달하였다.

[0163] 시험물은 노지에 직접 파종하였다. 스프레이더 줄의 감수성 오이를 3줄마다 식재하였다. 스프레이더 줄이 2 - 3주령이 되었을 때, 감염된 식물 (성장실에서 재배됨)을 스프레이더 줄 내에 이식하였다. 재배자 시험을 동시에 수행하였다. 시험 경작지를 미국 남동부에서 오이의 재배를 위해 보통 사용되는 기술과 일치하는 우수한 원예학 조건에서 유지하였다.

[0164] 3 내지 4엽기의 스프레더 식물을 온실에서 분무병을 사용하여 포자낭 현탁액을 분무함으로써 접종하였다. 접종 물은 멸균 증류수 내에 제제화하였다. 접종 후에, 식물을 고습도 생장상 내에 100% RH 및 20℃에서 18-24시간 동안 두었다. 솔리드 세트 스프링클러 (solid set sprinkler)가 야간 습윤 기간을 제공하는 노지로 스프레더 식물을 이식하여 질병 발생 및 확산을 조작하였다.

- [0165] 간혹 감수성 대조군으로 불리는 감수성 검사체에 대해 증상이 발생하게 되면 시험체를 평가하였다. PI197088 (저항성 대조군); DMP21, GP14, LLP 1, 포인세트 76, (중간-저항성 대조군); 및 스프린트440, 마람, 및 SMR58 (감수성 대조군)을 포함하는 대조군을 사용하였다. 각각의 시험 경작지에 대해 3개 장소에서, 즉 각각의 단부에서 및 중앙에서 관찰하였다. 각각의 시험 경작지에 대한 평균 질병 지수를 계산하였다. 이를 3개의 모든 반복 시험에 대해 평균하고, 표준편차를 결정하였다. 이어서, "저항성", "중간 저항성" 및 "감수성"의 범주에 대한 질병 지수 범위를 결정하였다. 차이는 일반적으로 최종 질병 저항성 수준을 결정하기 전에 수회 시험되었다. 무작위 완전 블록 설계가 질병 시험에 사용되었다. 각각의 식물주는 3회 반복 시험되었고 - 시험당 약 40개의 식물이 시험되었다. 이용가능한 종자가 제한된 식물주는 단일 반복 관찰 시험 경작지로서 포함되었다. 검사체는 시험의 엄격도를 측정하기 위해 포함되었다. 시험 경작지의 길이는 12 피트이고, 블록의 종로 지점 사이의 구획은 3 피트이었다. 감수성 스프레더는 3줄마다 및 전체 식재 영역의 외부 경계 상에 식재하였다.
- [0166] **실시예 2: 노균병 배양 및 질병 스크리닝 - 온실**
- [0167] 상기 실시예 1에서 기재되고 저장된 슈도페로노스포라 쿠벤시스 (Berk. et Curt.) 로스토우를 온실 스크린을 위해 또한 사용하였다. 스크리닝 접종 2주 전에, 감수성 오이 숙주를 모종 트레이에 파종하였다. 식재 1주 후에, 모종에 약 5×10^4 개 포자낭/ml의 비율로 접종하였다. 이어서, 접종된 숙주를 성장 챔버에 넣고, 7일 동안 약 70°F에서 유지하였다. 7일 후에, 모종을 고습도 성장상 내에 밤새 넣어 포자형성을 유도하였다. 이 배양액을 감수성 오이 숙주 상에 주 단위로 전달하였다.
- [0168] 떡잎 스크린을 모종 트레이에 식재하였다. 감수성 및 저항성 검사체를 각각의 트레이의 양 측면에 식재하였다. 식물을 파종하고, 온실 내에서 80°F에서 유지하였다. 떡잎의 경우 7 내지 10일에 및 본엽의 경우 제5 엽기에 접종을 수행하였다. 분무병을 사용하여 떡잎의 경우 약 5×10^4 개 포자낭/ml 및 본엽의 경우 1×10^4 개 내지 3×10^4 개 포자낭/ml의 농도로 포자낭 현탁액을 분무함으로써 식물에 접종하였다. 접종 후에, 식물을 고습도 성장상 내에 100% 상대 습도 및 20°C에서 18-24시간 동안 넣어 두었다.
- [0169] 간혹 감수성 대조군으로 불리는 감수성 검사체에서 증상이 발생하게 되면 시험체를 평가하였다. 사용된 대조군은 PI197088 (저항성 대조군), 마람 (감수성 대조군), 및 SMR58 (저항성 대조군)이었다. 떡잎 스크린의 저항성 및 중간 생존체를 유지하고, 다시 접종되거나 또는 온실 재배 백 (grow bag) 내로 이식될 3인치 토탄 화분 (peat pot) 내에 이식하였다. 본엽 스크린의 저항성 및 중간 생존체를 온실 재배 백 내에 직접 이식하였다.
- [0170] **실시예 3: DM 저항성의 오이 식물주 내로의 유전자이입**
- [0171] 플랜트 인트로덕션 (Plant Introduction) 식물주 PI197088에서 확인된 노균병 저항성은 전세계에서 다수의 스크리닝 위치에서 및 피. 쿠벤시스의 보다 구형 (호박 및 오이에 대해 병원성) 및 새로 나타난 (호박에 대해 병원성으로 간주되지 않고 오이에 대해서는 매우 병원성) 단리물 모두에 대해 안정한 것으로 밝혀졌다. 그러나, PI197088의 식물 및 열매는 모두 상업적으로 허용되지 않는다. PI197088에서 노균병 저항성에 기여하는 좌위를 실시예 4에서 기재된 바와 같이 분자 마커를 사용하여 맵핑하였다. 하나 또는 두개의 DM 단리물 모두를 사용하여 총 약 128개의 오이 식물주를 개별적으로 스크리닝하였다. 공여자 및 재발성 모식물체 사이에서 마커 다형성에 대해 스크리닝하기 위해 저항성 식물주로부터 DNA를 단리하였다.
- [0172] 특히 저항성 또는 중간-저항성인 오이 변종 콘퀴스타도르 (Conquistador), 크리스피나 (Crispina), DMP21, 및 PI197088이 이들 스크린에 포함되었다. 감수성 대조군 식물주로서 특히 콜트 (Colt), 스프린트440, 탈라데가 (Talladega), 루신데, 및 세레나 (Serena)를 또한 포함시켰다. DM 저항성과 연관된 마커를 확인하기 위한 DNA 분석 및 DNA 라이브러리의 생산에 사용하기 위해 상기 각각의 DM 저항성 식물주로부터의 조직 샘플을 수집하였다. 또한, 일반적으로 각각의 기탁 식물 내에서의 혼합된 화분 수분을 통해, 및 가능하다면 자가수정을 통해 DM 저항성을 나타내는 각각의 식물주로부터 종자를 수득하였다. 혼합된 화분 수분은 야생형 오이에서 일반적으로 사용되었고, 그 이유는 이들 오이가 종종 자가-부적합성 인자를 함유하기 때문이다.
- [0173] PI197088 및 재발성 감수성 모식물체 (재배종 루신데) 사이에 초기 교배를 실시하여 F₁ 식물을 생성하였다. 이들 교배로부터 유래된 식물을 실시예 1 및/또는 2에서 기재된 바와 같은 질병 시험을 위해 사용하였다. DM 저항성에 대해 스크리닝하기 위해, 원예학상 허용되는 식물 및 열매 종류를 나타내고 PI197088로부터 유전자이입된 DM 저항성을 가져야 하는 최상급 식물주의 집단에 대해 실험을 수행하였다. 상기 시험을 3개의 위치 (미국 캘리포니아주 우드랜드, 조지아주 티프톤, 및 네덜란드 위게닌겐)에서 수행하였고, 슈도페로노스포라 쿠벤시스

의 2개의 단리물: 즉, "보다 구형" 단리물 (호박 및 오이에 대해 병원성), 및 추정 "신형" 단리물 (호박에 대해 병원성으로 간주되지 않지만 오이에 대해서는 매우 병독성임)을 사용하였다. 이와 동시에, PI197088에서 DM 저항성에 기여하는 QTL을 확인하기 위해 분자 마커를 사용하여 이들 샘플의 유전자형을 결정하였다 (또한 실시예 4 참조). 이들 시험은 DM 병리학 반응을 PI197088로부터의 대립유전자의 존재와 연관시킨다. 이 시간 동안, 샘플을 제출한 재배자는 식물 및 열매 종류가 주목되거나 정량되는 이들 식물주에 대해 이용가능한 모든 시험 데이터를 수집하였다. 표 9-10에 제시된 다음 식물주를 노균병 저항성에 대해 스크리닝하였다.

표 9

종자 기탁이 이루어진, 미국 특허 출원 공개 2009-0265083에 나열된 오이 식물주에 대한 계통.

오이 식물주	계통
ASL147-2027	PI-197088-MO/ASL-1105-GY:@.1.1.1.1.4.
EUR154-1012GY	[(ALCOR(WMV)xVENTURAxPIDM/NIZ335*2)X(ALCOR(V)xVENTURAxPIDM/CARMEN*2)]X[(ALCOR(V)xVENTURAxPIDM/CARMEN*2)X(ALCOR(V)xVENTURAxPIDM/CARMEN*2)]
EUR154-1021GY	(ALCOR(WMV)xVENTURAxPIDM/NIZ335*2)X(ALCOR(V)xVENTURAxPIDM/CARMEN*2)
GSP33-1094GY	F9-(Jazz/5/Sal//SMR-58Nim/PiHoNi/3/NO-50/4/H-171wit/SMR-58Nim//Carol/3/NO-50 * Harmonie)
GPN33-1093GY	F8-(Jazz/5/Sal//SMR-58Nim/PiHoNi/3/NO-50/4/H-171wit/SMR-58Nim//Carol/3/NO-50)
03/8020-20_TUP03_DMFL_1	BA.KO {(147W*PI)*225)} * (BA MO*part) BC4 03/8020-20_TUP03_DMFL_1+---1_TUNE03_DM-2_TUp05_TKFA06
03/8024-19_TUP03_DMFL_1	BA.KO {(147W*PI)*225)} * [(me/n*147wmv)bc4f5*(bamo*parth)bc4f5] 03/8024-19_TUP03_DMFL_1+---4_TUNE03_DM-1_TUp05_TKFA06
03/8039-5_TUP03_DMFL_1	BA.KO {(147W*PI)*225)} * HP 159] * [(BA MO*part) BC4 03/8039-5_TUP03_DMFL_1+---3_TUNE03_DM-4_TUp05_TKFA06

[0174]

표 10

DM 저항성 QTL 영역 내의 5개의 마커에 대한 마커 일배체형 및 연관 노균병 (DM) 반응 점수. 데이터는 37개의 오이 식물주를 나타낸다.

마커	cM ¹ 위치	Hap ² . 1	Hap. 2	Hap. 3	Hap. 4	Hap. 5
마커 및 샘플 일배체형						
CAPs_ENK60	4	SUS ³	SUS	RES ⁴	RES	RES
CAPs_ENK59	5	SUS	SUS	RES	RES	RES
CAPs_17170	11	SUS	SUS	SUS	SUS	RES
CAPs_17179	11	SUS	SUS	SUS	SUS	RES
CAPs_17563/66	39	SUS	RES	SUS	RES	RES
마커 일배체형과 연관된 노균병 요약 통계						
평균 (DM ⁵)		4.8	4.5	4.0	2.2	3.3
최소 (DM)		4.3	3.3	3.7	1.0	1.0
최대 (DM)		5.0	5.0	4.3	3.3	5.0
표준 편차 (DM)		0.2	0.6	0.3	0.5	1.2
일배체형 식물주의 수		3	3	1	19	11

¹ cM = 센티모건.

² Hap = DM QTL 내의 5개의 마커에서의 일배체형.

³ SUS = 맵핑 집단에서 루신데 모식물체와 연관된 노균병 감수성 대립유전자.

⁴ RES = 맵핑 집단에서 PI197088 모식물체와 연관된 노균병 저항성 대립유전자.

⁵ DM = 노균병에 대한 병리학 시험에서의 표현형 점수.

[0175]

[0176]

37개의 오이 식물주를 제어된 병리학 스크린에서 슈도페로노스포라 쿠벤시스에 대한 반응에 대해 시험하였다. 6개의 식물에 대한 3개의 반복 시험으로 18개의 식물을 시험하였다. 각각의 반복 시험으로부터, 3개의 식물 (3개의 반복 시험으로부터 총 = 9)을 DM QTL 영역을 규정하는 5개의 마커에 대해 유전자형 결정하였다. 이들 데이터로부터, 컨센서스 마커 유전자형 및 DM 요약 통계학을 각각의 식물주에 대해 개발하였다. 이들 데이터를 표 10에 요약한다. 본 시험에 사용된 5개의 마커는 DM QTL에서 8개의 연관 마커로부터 선택하였다. 5개의 마커는 실험실에서의 신뢰할 수 있는 성과, 및/또는 다른 마커보다 더 일치한 DM 표현형과의 상관관계를 기초로 하여 선택하였다.

[0177]

표 10은 마커 CAPs_ENK60, CAPs_ENK59, CAPs_17170, CAPs_17179, CAPs_17563/66에서 일배체형 RES-RES-SUS-SUS-RES의 보다 큰 DM 저항성 표현형과의 상관관계를 지지한다. 마커 CAPs_ENK60, CAPs_ENK59, CAPs_17563/66에서 SUS 대립유전자를 RES 대립유전자로 치환하면, 등급 기준이 1 = 저항성 및 5 = 감수성인 시험에서 평균 DM 표현형이 4.8로부터 2.2로 변한다.

[0178]

실시예 4: DM 저항성 오이 식물의 마커 분석

[0179]

오이 게놈 전체에 분포된 유전자 마커를 이용하여 저항성 식물을 분석하였다. 쿠쿠미스에 대한 유전자 마커는 다양한 공급원, 예를 들어 USDA-ARS (Vegetable Crops Research Unit-Department of Horticulture, University of Wisconsin-Madison)로부터 이용가능하다. 보다 큰 세트의 마커를 모식물주에 대해 미리 스크리닝하고, 미리 스크리닝한 마커 중에서 후속 스크린을 위해 다형성 마커를 선택하였다. 이어서, 예를 들어 표 10 및 도 2에 도시된 바와 같이 대부분의 저항성 식물 및 특이적 공여자 대립유전자의 존재와의 상관관계를 확립하였다. 대부분의 저항성 식물은 예를 들어 도 2에 도시된 좌위에서 저항성 공여자 식물주 PI19788로부터 유전자이입된 DNA를 함유하였다. DM 저항성 표현형에 기여한 마커를 보유하기 위해 다수의 회귀 모델을 구축하였다. 본 분석에서, 마커 CAPs_ENK60, CAPs_17170, 및 CAPs_17563/66은 유의한 상태로 유지되어, R²가 0.47인 모델을 생성하였다.

[0180]

쿠쿠미스 중에서 DM 저항성에 대한 QTL을 규정하기 위해서 염색체 5 상의 제시된 마커에서 대립유전자를 확인하기 위해 이용된 프라이머 쌍 및 반응 조건을 표 11 및 표 12에 제시한다. 마커 17179의 경우, 동일한 역방향

프라이머를 두 대립유전자에 사용하였다.

표 11

염색체 5 상의 QTL의 대립유전자를 확인하기 위해 사용된 프라이머 쌍 (서열 1 내지 19).

마커 명칭	전방향 프라이머 (5'에서 3')	역방향 프라이머 (5'에서 3')	효소	전기영동 조건	주석
CAPs_21826	TCAAGCCATAGTC TAACCCATGC	CGCTATATCATGGATG GCTAGAAAT	NsiI	3% 아가로스 젤	
CAPs_ENK60	GAATAGATAGGCT ACACTTTTCCCTCT TG	GTATAAACTTGAGT GAATTTAATGCATGA A	HpyCH4 IV	3% 아가로스 젤	
CAPs_ENK59	TGTTTCATAACTAC AGCTTCATGTTAA ATATTACT	TAGTTTCTTTCTTGCT GGACGAACC		3% 아가로스 젤	
CAPs_17170	TATGGGCTATGTG AAACTCTT	AGCGTGACAACTACA AAACAT	Afl III	3% 아가로스 젤	
CAPs_17179	GAAATAAATGGAT GAAGCGAGGA	GTTCGTTGATCAGTGT GATATTTCAAT		모세관	P1197088 대립유전자에 대한 전방향 프라이머
CAPs_17179	ATCGGTCTTTGCCA CCTTTTG	GTTCGTTGATCAGTGT GATATTTCAAT		모세관	투신테 대립유전자에 대한 전방향 프라이머
CAPs_18229	TGTTTGAAGGGT TTCTTGGG	TGCCATGTCGCCAACA GT	HindIII	3% 아가로스 젤	
CAPs_17563/6 6	AGGAGGGACAGAG AGAAATTTGATATA AT	TCCGTTTtagGTGATT GTCAAATACAT		모세관	
CAPs_ENK70	AAAGTTGATAGTG CATGAGTTGGTAA AATA	TCCGCTTATGGGTTTT TGTGAG	TaqI	3% 아가로스 젤	
UBC12-1200	TATGGGCTATGTG AAACTCTT	AGCGTGACAACTACA AAACAT			

[0181]

표 12

PCR 반응 조건.

PCR: 아가로스 겔 상에서 이동하는 마커 (CAPs_ENK60, CAPs_ENK59, CAPs_17170, CAPs_18229, CAPs_21826, CAPs_ENK70)에 대한 것임		
성분	10 μ l 반응당 조합	10배의 마스터 믹스:
HotStart-IT Taq 마스터 믹스 (2X)	5	50
5uM 전방향 프라이머	0.53	5.3
5uM 역방향 프라이머	0.53	5.3
MQ H ₂ O	3.14	31.4
주형 DNA	0.8	8
합계	10	100
PCR: CAPs_17179에 대한 것임		
성분	10 μ l 반응당 조합	10배의 마스터 믹스:
HotStart-IT Taq 마스터 믹스 (2X)	5	50
5uM 프라이머 1	0.53	5.3
5uM 프라이머 2	0.53	5.3
5uM 테일드 (Tailed) 프라이머	0.053	0.53
표지된 프라이머 1475	0.53	5.3
MQ H ₂ O	2.557	25.57
주형 DNA	0.8	8
합계	10	100
PCR: CAPs_17563/66에 대한 것임		
성분	10 μ l 반응당 조합	10배의 마스터 믹스:
HotStart-IT Taq 마스터 믹스 (2X)	5	50
5uM 프라이머	0.53	5.3
5uM 테일드 프라이머	0.053	0.53
표지된 프라이머 1475	0.53	5.3
MQ H ₂ O	3.087	30.87
주형 DNA	0.8	8
합계	10	100

[0182]

[0183]

PCR 증폭에 의해 표 11의 유전자 마커에 대한 분석을 수행하였다. PCR 반응을 다음과 같이 수행하였다: PCR 반응물은 1.0 마이크로리터의 오이 게놈 DNA (10 ng), 2 μ l 10x PCR 완충제 (ABI PCR 완충제 I: 파트 번호 N808-0006), 1.0 μ l 10x dNTP 믹스 (각각의 dNTP의 최종 농도는 250 μ M임), 1 μ l의 각각의 프라이머 (5 피코몰의 각각의 프라이머), 0.2 μ l Taq 중합효소 (1 단위), 및 총 부피를 20 마이크로리터로 만드는 멸균수를 함유하였다. PCR 반응물을 94℃에서 2분, 94℃에서 30초, 50℃에서 30초, 및 72℃에서 90초의 35회 사이클, 이어서 72℃ 5분의 단일 사이클로 인큐베이션하였다. PCR 반응은 예를 들어 ABI9700 PCR 기기 (어플라이드 바이오시스템즈 (Applied Biosystems, 미국 캘리포니아주 포스터 시티))를 사용하여 수행하였다.

[0184]

QTL 영역에서 초기에 스크리닝된 좌위에 플랭킹하는 게놈 DNA의 서열결정은 몇몇 DM 저항성 점수에서 관찰된 몇몇 가변성을 설명할 수 있다. 예를 들어, 저항성 일배체형이지만 가변 저항성 점수를 갖는 특정 식물주에서, 가변성은 CAPs_17170 마커 근처에서 관찰될 수 있다. 따라서, 상이한 DM 저항성 점수를 갖는 2개의 제시된 식물주 사이에서 상기 좌위에서의 대립유전자에 대한 서열을 비교할 때, 이들은 마커 검정을 위해 이용된 위치에서 일치할 수 있고, 따라서 두 서열은 동일한 유전자형으로서 규정될 수 있다. 그러나, 상기 식물주의 서열은 몇몇 경우에 예를 들어 가깝지만 특정 마커 검정에 의해 이용되지 않는 부위에서 3개 이하의 SNP에 의해 상이한 것으로 밝혀졌다.

[0185]

게놈 DNA 서열을 얻고, 이를 QTL의 존재를 확인하기 위한 마커로서의 단일 뉴클레오타이드 다형성을 검출하기 위한 PCR 프라이머를 설계하기 위해 이용하였다. 각각 염색체 5, 4, 및 2 상의 QTL 1, 2, 또는 4에 연관된 50개의 SNP 부위에 플랭킹하는 게놈 서열을 표 13에 제시한다 (서열 20-69). 이들 서열은 골든게이트

(GoldenGate)[®]

다중 유전자형 결정 프로토콜에 따라 각각의 마커에 대해 3개의 합성 올리고뉴클레오티드로 이루어진 세트를 설계하기 위해 사용되었다 (일루미나, 인크. (Illumina, Inc., 미국 캘리포니아주 샌 디에고); 예를 들어 문헌 [Fan et al., Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 68:69-78, 2003]; 및 [Gunderson et al., Nature Genetics 37:549-554, 2005] 참조). 또한, 이들 서열은 마커 확인을 위한 유사한 검정, 예를 들어 TAQMAN 검정을 설계하기 위해 당업계에 공지된 바와 같이 사용될 수 있다.

표 13

QTL 1, 2, 또는 4에 연관된 SNP 마커의 부위에 플랭킹하는 씨. 사티부스 게놈 DNA 서열.

마커 명칭	염색체; 지도 위치	게놈 DNA 서열 (서열 20-69). 다형성이 있는 SNP 부위는 각괄호 내에 제시된다.
NN0223782	2; 22.448	TTCATACGCCGTTGCAGCTGAAAGTGGCAACCATTACTTCCAGATCATT ATGACAATAAA[T/C]AACCAAGGCCACCTTCATGCATAAAATGGTAAGAT AATAGCAAGCTCTATACCTTCCTTTT
NN0225385	2; 27.538	TCTTGATCAATCCAACCTGGGTTGGAACCTCAAATTCAGAAATGGGGTTT AATCACAACCA[T/C]GTTCAATCTCAATTTTCAGATTCCGCCATCCCCC CACTCCCTATACTCAACCTCCTGAC
NN0226670	2; 30.115	GGTTTAGATGAAAAAGAGTATGCATTTCATGCTTTTGCACAAAGGCATTC CTGGCTTTCAA[A/C]TAGCTGTATCTCTTGCAGGGATATAAATGGATGCA ACACTCTTTTCAGTGAAAGAAATCC
NN0224124	2; 32.406	GGATCATTATTTATCCAACGTATTAGCAAGCTCTAATAGAAACACTTCC TAAAGAACATA[T/C]CGATCCAAATTATATGCTAAGAGAATTACCCAAC ATTTGAGCAAGTTTACTGACTACAGC
NN0246472	2; 38.441	TAGAAAACAAGAATGGTTCTCAAAGAACCTACCGACCGAATTGGTTGA GGATGAGATGAC[A/G]AATAGAAAACATTAATAATATGGTGGAGGAGGA GGCGATCGATGAACCGTCGCAAAGCATT
NN0225358	2; 50.250	CCACGAATGGAATCAATGAATTCACGAGCAACCTATAATAAGAGAGTG GAAAACAAAAC[T/A/G]CTCCTTCACCATCTAAGAAAACAATGTATAAAA ATCAGAGAAGGAAAGATAAAAGATACT

[0186]

QTL 1, 2, 또는 4에 연관된 SNP 마커의 부위의 측면에 위치한 씨. 사티부스 게놈 DNA 서열.

마커 명칭	염색체; 지도 위치	게놈 DNA 서열 (서열 20-69). 다형성이 있는 SNP 부위는 각괄호 내에 제시된다.
NN0223782	2; 22.448	TTCATACGCCGTTGCAGCTGAAAGTGGCAACCATTACTTCCAGATCATT ATGACAATAAA[T/C]AACCAAGGCCACCTTCATGCATAAAATGGTAAGAT AATAGCAAGCTCTATACCTTCCTTTT
NN0225385	2; 27.538	TCTTGATCAATCCAACCTGGGTTGGAACCTCAAATTCAGAAATGGGGTTT AATCACAACCA[T/C]GTTCAATCTCAATTTTCAGATTCCGCCATCCCCC CACTCCCTATACTCAACCTCCTGAC
NN0226670	2; 30.115	GGTTTAGATGAAAAAGAGTATGCATTTCATGCTTTTGCACAAAGGCATTC CTGGCTTTCAA[A/C]TAGCTGTATCTCTTGCAGGGATATAAATGGATGCA ACACTCTTTTCAGTGAAAGAAATCC
NN0224124	2; 32.406	GGATCATTATTTATCCAACGTATTAGCAAGCTCTAATAGAAACACTTCC TAAAGAACATA[T/C]CGATCCAAATTATATGCTAAGAGAATTACCCAAC ATTTGAGCAAGTTTACTGACTACAGC
NN0246472	2; 38.441	TAGAAAACAAGAATGGTTCTCAAAGAACCTACCGACCGAATTGGTTGA GGATGAGATGAC[A/G]AATAGAAAACATTAATAATATGGTGGAGGAGGA GGCGATCGATGAACCGTCGCAAAGCATT
NN0225358	2; 50.250	CCACGAATGGAATCAATGAATTCACGAGCAACCTATAATAAGAGAGTG GAAAACAAAAC[T/A/G]CTCCTTCACCATCTAAGAAAACAATGTATAAAA ATCAGAGAAGGAAAGATAAAAGATACT

[0187]

NN0227700	2; 55.622	GAAGAAGAGTGCAACAAGTAAGAGTCTGGCTGGGGGAGTTGAAGTTCA TTCATGGATTAG[A/G]TTAACATACGAACTTTGGAGGCGTGCAAAAGAC AATCCCCATAACTTGATTACGGGCTTC
NN0224617	2; 57.989	AAAATATATGATCCTACAACATAAATAAGAGTGCACATGAAGATACCTTA TATATAGGAGA[T/C]AATGATGTCGTATGTCCTGCTTGATGATTTCGAAG AACCAGATGACTGAAGAAGGAATAA
NN0247695	2; 66.466	GGAGTTAATCGAAGGAAGAAAAATCAACTCGTCTTAACAGCATCACAAT AATCAAATTCCTT[T/C]AGGTATACCTTCTCTCCTTGTCACCTGGACTCAT CAGGATCCTCATCGGCGATTITGCG
NN0227242	2; 73.201	CTCTGAAGAATTACCGAAGGGGGTCCGAATTTTCTCTATAGCCTGCAAT GAGAGGAATAA[T/C]GAGGAATGAAAATGTTGGCTCTGTAGCACATGAA TGAAATGCGGATATTCTGCCAAAGGC
NN0223824	2; 78.867	AGAACACCCCCAACGTCCCAAAATCACTACATCTCCAACCTTTCTTC TCCTCATCAT[T/C]AGTTTTAGTCTCTGTTTTGTTGGAACTCTCAAATGAA ATTGCTTGAATACTCTTGATAAAA
NN0223181	2; 82.411	ACCAAAAAATGAAAATAAAATCAGGCTCCACCTTCACCTTGACAGTAATATG ATGGCAGTACG[T/C]TGCATTGTAAACCATGTTAATAGAAGAAAAAGAAC TGTGAGAAAAATACTAGAAATTC
NN0226638	2; 88.353	CGGATGAGGATTTCAGGTGTTTTTTCTAAACAAATGTTTGCCCTTTAAAC ATGCGTTTGC[C/G]GATTCTGGTTTTATTTGTTTTCGGTTGAT
NN0225012	4; 20.649	ACTATCCTAATACTACGGAATTGGTGTGGAGAACAGAACAGTTATTGG TTGTTTCGAAA[A/G]TCTCGACAACCTTCGATCGATCACTCTTGTTAGGG GGTATCCCAACTACATCATAAGCAA
NN0228579	4; 25.816	ACTCATATTTACAGAAAACCTACTCTAAACCACAAGTCCTTAAACAAATA TATTTCTGCTT[C/G]CGGCTCTCTTCCTATCATGAAATTTTGCAAGCTATT CAGAAAAATCC
NN0226451	4; 27.944	TGCTTCTTGATCTTGCTAATGTAAGAGATATCACTTACATGAAAGGCTT TCCGAGTCAT[T/C]GTCAATTTCTGCACCTGGGAGGCTTTTGGTCATTGCTC TTGAATACCACATTCCCATATTT
NN0225088	4; 30.428	GAGTTTCCAAAATTGAACATCTTCAATGGACAGAAAGTTTGAAGTAGC AAGACTTAAGG[T/C]TTCCACTGGTGTTCCTTATCTAAGTTCTCGAACA ATTTGCATTTGATTCTTAAATATT
NN0226219	4; 32.977	TAATAGTTACATGATGCTTTATTGCTACTATATATGTTAGAAATATTAT CCAGATGCGA[A/T]ATATTTTCAGACACTGCTGTGAATGTTATTTGGACT AACGAAACTTGTATTTTGTGCTG
NN0247551	4; 35.460	GTTTACATGAAATATGACACACCCCAAAGATATGTTGATTAAGATGAT AAGTTCCCAAG[A/G]ATAGAAGAATTATGTGTGATTGCTCTTTGATGT CCAGGAACTAATGAGATTTATCTGG
NN0246357	4; 40.294	TATAGCCGAGCAACCGAGTCTTAGATTTGGTTTAAGAGCATCTACGAA TAGATGGTCTGA[T/C]TGATGAATGATGAGCAGAAACGCTCTTGAAACG GCTTCnTCACATTTGAACCTCCATGCA
NN0225551	4; 46.640	TGATTTATCTCATGGAGAATACCAATGTGCAAAAGAAACCAAGGCGTT CTTCTTCATCT[A/G]TGTTTAGCTTCGATATTGTGTGTAGCACTGCANN NNNNNNN
NN0226732	4; 49.999	AGAAATTTTTAAGACAATACTTGATATCCTTTTCACAATTCAGTTCAAT CCTCCTATAA[T/C]TGATGATTCCAGCAACGATTAGGAATGATTTCTCAAT TCCCACCTTGGTGCACATTTCAAG
NN0247689	4; 51.938	CTTTATTTTATTTTCAGGTGCTCTTAAATTTGAGCACAGAAATAGTAAA GG[A/T]TGCAATTATGGTCTCCATACGAATGGCAAGTTTACAAGTGAGT AACTTTTGGGTTACA
NN0247342	4; 54.495	GTAATTGTACCAATATGAAATGTGCACATGCGCTCTTGTCCTAGATAAT ATGCACAGTTC[A/T]CCTTAAAAGCTAAGCATAAGCCACAAATCCAAGA ACCAATGTAACCAAAAACAGTATGGGA
NN0224702	4; 62.385	CTGTTGCCTATGCAAAAGCATTTATACAGCTTCATTCTGCCATTTAACGA ATGTTCACTG[A/T]AGTACCTGAGATGGCTTCCAAAACCTGTCTTGTAAGG TGTGCCTCTCATCTGCATCTGTCT
NN0225482	4; 66.478	TCTTTTATACTTTTCTGATCTTGTAAGTTTAAAGGCTTCAACTGGTGTA GTGTAGTCA[A/C]CAGAAGTCTTTTATAATTGTTACACTTTAATTTGATA GGAAAGTGTTCCTTAA

[0188]

NN0224538	4; 67.148	GCTAGTATATCTATATATCTTTTGGAGAGCTTATGATAATTATCAAAATG AAGATTCTAG[C/G]TGTGTGATCAAGAGAAAGATTCTTAGCCTACCTCTTA GCTCTTTTAAAAATTTGTGGTAGTT
NN0247543	4; 71.973	TAAATTTGTTTTACATTTnTTTTnCAAATAATATATATCTTACAGTTTAGG AGGCTTCTT[T/G]CACCATTACATATAAAACATATGGAACAAACATTACC TCTAAATAACCAATAGACTTTTA
NN0224041	4; 75.834	TCTTTAAAAGAGCTTGAAAGATGAAGAAATTGCAAAATTTCAATCATT TCGATCCCTCC[A/T]CTCACCTGAAAAAGTGGTTAATTCTGATGATTTTA GATCATGGTCCATTGATCCCTCAAT
NN0228853	4; 78.923	GTCCATACTACCATAATTGATAATACTAAGTACCCTGAACCTTTGAGAT TTGAATCTTTCT[T/G]ACCCACAGGTTGTAAACACAAATACGAGTAACA AAGATAAGATTGAACTCAGCCTTT
NN0227762	4; 85.871	TTGGTTCCTGATCCAGAAGAAAAATGGTTGATTTCCCTTATGATTCTTTTC AGTAAGGTGG[A/G]ACAATCTTGCTCCAGGTCCTTCGTCATAAAACACCC CCTCCAAGGAAGAGAAACCCCAA
NN0227587	4; 87.395	ATTTTATAGATGTGAGCCTATTTATGTGCTCTTAACTTCTCTTTTAGTAATG GTGGAATGT[T/C]AATTTGTTTATGAGCAATGGTATCGTAATAAATGGT TGGATACATAATAGCTTTGCTTG
NN0228457	5; 25.235	GTTGGGCTTTTTTGTGTATTATTCTTTTTTGTGCTATTATGTATCTAAAG GCAGATGAA[A/G]ACCTGGATCATATTCTTTGGCAATGTGATTTTTGCGTT GGTGTTTGGGATTCTTTTTTCCA
NN0246356	5; 30.032	TTAAACAATTGACCCAAAAnTTAAAGTTGATGGGTAAAGGTAAACTAA CATTATATCAC[A/G]CAACATTCCCTCATTGTAGACTTGAAATATGTAG AAAAGCCATTAGTGAAATGAATA
NN0246332	5; 33.371	TATTTTGGTGCTAACCGAATAGTTTGAGAGGGAGAAATAGGAAACGAT GACAAACnCATG[A/G]ATTGGGGGAAGTGTTCGACATTGAAAAGGAGA ATAAATCAATTAATAATTATGCATTCAA
NN0223399	5; 38.201	ACACAGTATTGATAATTTCCAAATCAACACTTGAATATTTTTGTAAAT ATGCACGACA[A/T]ATTGGGTCGTTATTGGTCCATGATGGTAATCTATA CTTCATATGAAATCTTATCTCTA
NN0223689	5; 41.014	TATATGTTGCTAATGTGCTATTTTTTAAAGAAAAAATAAAGGCCCATTT GGTCATGGTTT[T/C]CTCTCAATTGTCAATTGTACTTCCACATTATTTG AATAAGCAATCCAACCTTTTACCTA
NN0247731	5; 44.780	TGAAGAAGAGCCTTTATTGCGTCATCTGGAACCTCCTTTATCCATTATC TTGAATGGT[T/C]GGTCATGAACACACCTTACCATTTATTATTCAATGC CATGATTGCTTACACAGGTGTG
NN0226166	5; 49.540	AGTCGAGTTTTGAGCCACTCATAACCCAGTTGAATGCTTTTAACTTTGTA GTCACCTAACa[C/G]AAACACAGTGGAAATGGTAGTTGAAGTAGGGTCATT TTGGCTAATTCATTGCATGTTGTTA
NN0225480	5; 52.743	TGTCCAAAAGAAATATATGCTCAAACTGTGCTCAATCACCGTCTTCTCT CCAATTTCC[T/C]ATATCATCTTCGATTATTACTTTCTCTATTTCATTTA GTTCTCAATAATTAATAACGGC
NN0246411	5; 55.649	CCGAGGCGACCTCCGGCTTGCCCGTTACAAGTTGGGAGTTGGGCCTTG GCTCTCGACGT[A/G]GGCCGAGAGTCCATTGCTCTCTAAAGATTGGTGGG CACCGCTnAGGCTGGTTACAGAGC
NN0227759	5; 59.710	CTCTAGCCAAAATAATTCCATTTTTGTTTCACAAAATGAACCTGTTGGA GGGAAGACCA[C/G]TGCGCTACCCATCCCAATTCAGATTCTGGAAATA TGGCCAAAGATCATTTCATTGAGGTC
NN0247348	5; 61.450	ATGGAGCTTAGAGAAAAACGACCTAGAAAnTATTATCCTTATTATGTCG AACGGGCTGTC[T/C]GGTAAGATTAGTTGAGGTGCGCATAATACCTGGA CACTCACAATATGnnnnAAAAAAAn
NN0228465	5; 68.021	ATATGGAATATTGACAACCTAATTAGTTACTTCTAAAACCTGCAATAGCA GTCACGTTAGT[C/G]TCCCCAGGGAGAGAAGAAATACTAGAATTTGT GAGCCACTGTTAATAGATTCAAAATA
NN0247786	5; 71.424	TTAGGTTCCCGCTATTGCAATACCAACAAGGCATGAAGGCTTT[C/G]GCC ACAATGTGAAATCATCAACAGTTACTATGAACAATGAATTCGCTAACAG GAAAnCGT
NN0226645	5; 74.784	TCTAATTCGATGAGTTTGTCTGAATTCCCAAGTAAGAACCAAGTTCCA TTCATCTCTC[A/G]AGCACAAACCTTTCCACCAAAACATAACACCTAAA

[0189]

		TCTCTCCACATTCCCTTTCCTTTA
NN0223809	5; 76.617	GGAGATTGTTGCACGCCTGAAGAAAGCCTTCAGAATTACCATTAAGACT TCCAACTCTG[T/C]TGCATATTGTCAAGAAAGCTAGAGATTTCCTCAG AAGCTACTTTAATGGCAGGGCCCTC
NN0227071	5; 78.303	AGGAAAATACCTTCCAATAGAAAAATGGTAAATGCAATAAGCATCTA GTTTCATCCAATT[C/G]CAAGGGTAATGGCTAGTTCAAGATGGAACATAA ACTCTCAGAGTGGTGTGTGCAATCTG
NN0226870	5; 80.340	GGTTACAGAGTCCAGAGCGATCAATGGAGATTGTGGATGTTGAAGGTTT AGAAGAGAAAG[A/G]TCGTTGATTAAAGGAGTCTTCATTCTCCAGGTGC TGAACGACAGTACCTTCCGGAATCTG
NN0228148	5; 82.273	ATGATCTCAATTCATACCATATTATTGTATGAGCTAAATGTGTATAAA GAAAAGGAAAG[T/C]TATAGAAGGATGGATTCTGACATTAACACAAAGG ATAAAAACCTGCAAACTTATTATATA

[0190]

[0191]

특히 식물주 GSP33-1094GY 및 GPN33-1093을 비롯하여 DM 저항성 공여자 대립유전자(들)를 함유하는 식물 (표 1-8, 및 14 참조)을 추가의 육종을 위해 선택하였다. 육종 전략에 따라, 추가의 육종을 위해 선택된 식물은 공여자 (저항성) 대립유전자에 대해 동형접합성 또는 이형접합성일 수 있다.

표 14

식물주 설명 - 유전자이입된 DM 저항성을 갖는 추가의 식물주 및 비교 식물주에 대한 선택된 작물 특성 및 질병 저항성 형질.

고수준의 DM 저항성을 갖는 식물주										마커 유전자형								
식물주 코드	종자 공급원	종류	개화 패턴	단위결실	쓴맛 없음	CMV	오이 검은별 무늬병 (씨, 쿠쿠메리눔)	PM(에스. 폴리기네아)	DM(피. 쿠벤시스)	평탄/가시	백색 가시 색상							DM 평균 점수
05-346	NJ05 854-3	피클, 단위결실, 가시	GY	그리함	그리함	1	1	2	2	가시	백색		B	B	B	B	A	1.8
GSP33-1094GY	NJ05 696-4	피클, 단위결실, 평탄	GY	그리함	아님	2.5	5	1	2	평탄	xxxxx		B	B	A	A	A	2.0
01-349	VJ02 322-6	피클, 단위결실, 가시	GY	그리함	그리함	1.5	1	1	2	가시	백색		B	B	B	B	A	2.3
GPN33-1093GY	VJ02 55-3	피클, 수분, 가시	GY	아님	아님	3	5	2	2	가시	백색		B	B	A	A	A	1.8

[0192]

DM에 감수성인 식물주				마커 유전자형										DM 평균 수분			
식물주 코드	종자 공급원	종류	개화 패턴	단위결실	쓴맛 없음	CMV	오이 검은별 무늬병 (썩. 쿠쿠메리움)	PM(에스. 폴리기네아)	DM(피. 쿠벤시스)	평탄/가시	가시 색상						
05-110	VJ05 110-3	피클, 단위결실, 평탄	GY	그리함	그리함	2	1	1	4	평탄	xxxxx	B	B	B	B	A	B
01-714	NJ05 684-4	피클, 단위결실, 평탄	GY	그리함	그리함	2	1	2	4	평탄	xxxxx	B	B	B	B	A	B
05-779	VJ05 273-4	리켄살, 단위결실	GY	그리함	그리함	5	5	5	5	평탄	xxxxx	A	A	A	A	A	5.0

[0193]

[0194]

식물주 05-346은 길이/두께 비가 3.2인 암녹색 열매 색상 및 원통형 열매를 산출하면서 강한 성장력을 보이는 것으로 밝혀졌다. 식물주 GSP33-1094GY는 열매가 꽤 길고 (길이/두께 비: 3.3/3.4), 얇은 작은 잎의 성향으로 다소 위를 향하면서 강한 성장력을 보이는 것으로 밝혀졌다. 열매의 껍질은 다소 질겼다. 식물주 01-349는 우수한 열매 형태를 보이면서 생산성이 높은 것으로 밝혀졌다. 열매 과육은 단단하고, 열매의 평균 길이/두께 비는 3.3이었다. 식물주 GPN33-1093GY는 강한 성장력을 보였다. 잎은 다소 말렸다. 그 열매는 약간 가시가 났지만, 가시의 밀도는 매우 낮았다. 열매의 평균 길이/두께 비는 3.3이었다.

[0195]

실시예 5: DM 저항성 좌위의 맵핑을 위한 추가 집단의 생성

[0196]

노균병 병원체 (슈도페로노스포라 쿠벤시스)에 대한 오이 저항성의 근간을 이루는 좌위를 확인하기 위해, 각각의 2개의 감수성 모식물체 (API-45-5312-MO 및 VJ03-68-06)를 동일한 저항성 식물주 (PI197088)에 의해 교배시킴으로써 2개의 추가의 맵핑 집단을 생성하였다. 각각의 상기 교배로부터, 단일 F₁ 식물이 자가 수분되어 2개의 F₂ 집단을 생성하였다. 이들은 각각 교배 API-45-5312-MO x PI197088 및 VJ03-68-06 x PI197088로부터의 "API" 및 "VJ" 집단으로 표시되었다. F₂ 세대에서 시작하여, 독립 계통 육종 절차를 사용하여 2개의 집단 각각에서 약 200개의 F₅ 패밀리를 생성하였다. 이 과정은 각각의 집단에서 약 250개 F₂ 식물의 자가 수분에 의해 F₃

패밀리를 생성하는 것을 수반하였다. 각각의 F₃ 패밀리로부터, 단일 식물을 자가 수분시켜 F₄ 패밀리를 생성하였다. 각각의 F₄ 패밀리로부터, 단일 식물을 자가 수분시켜 F₅ 패밀리를 생성하였다. F₄ 식물이 성장할 때, 각각의 식물로부터 조직 샘플을 수집하였다. 이들 샘플을 DNA 단리 및 마커 유전자형 결정을 위해 사용하였다. 각각의 F₄ 식물로부터 유래된 각각의 F₅ 패밀리로부터의 다수의 식물들, 반복 시험된 다수 위치 병리학 (즉, 질병 저항성/감수성) 시험에서 슈도페로노스포라 쿠벤시스에 대한 반응에 대해 시험하였다 (실시예 6 참조).

[0197] **실시예 6: DM 저항성에 대한 추가 집단 내 오이 식물의 분석**

[0198] 이어서, 실시예 5에서 기재된 맵핑 집단으로부터의 각각의 F₄ 식물의 마커 유전자형을 모식물체 유전자형 대 자손체 성과 방식으로 DM 질병 저항성/감수성 시험에서 F₅ 자손체의 성과에 대해 분석하였다. 이들 집단으로부터의 오이 식물을 터키, 태국, 프랑스, 미국, 네덜란드 및 인도를 포함한 다수의 위치에서 성장시키고, 피. 쿠벤시스에 의해 유발된 노균병에 대한 저항성의 수준을 결정하기 위해 온실 및/또는 노지 조건 하에 생물검정에 적용하였다. 일부 위치에서 수행된 저항성 시험은 상기 실시예 1-2에 기재된 프로토콜을 이용하였다. 프랑스 (Nimes) 및 터키에서 수행된 저항성 시험은 유사한 프로토콜을 이용하였지만, 예를 들어, 터키 안탈리아주 보즈테페에서 천연에서 발견된 피. 쿠벤시스 단리물을 사용하였고, 네덜란드 및 태국에서의 시험은 또한 현지에서 얻은 피. 쿠벤시스 단리물을 사용하였다. SMR58, 마담 및 코로나 (고도로 감수성임); 포인세트 76, 아데펜 (부분적으로 저항성); 스윗슬라이스 (중간 저항성); 및 대조군으로서 PI 197088 (최고 수준의 저항성)을 포함하는 군 중에서 선택되는 일단의 재배종을 사용하여 맵핑 집단에 대한 시험을 수행하였다. 접종은 식재 약 6일 내지 1개월 후에 새로 포자형성하는 분리된 잎을 사용하여 온실에서 수행하였다. 접종하고 약 6-30일 후에 떡잎 및 제1 및 제2 잎에 대해 3회 이하의 평가를 수행하였다. 예시적인 질병 등급 기준을 아래와 같이 규정한다:

[0199] 1: 본엽 또는 떡잎이 증상을 보이지 않는다.

[0200] 2: 잎 또는 떡잎이 녹색이고, 가능하게는 일부의 황백화 반점이 존재한다.

[0201] 3: 괴저성 반점이 융합성이 아니고; 30% 미만의 떡잎 영역이 침범되고; 잎은 중앙부가 괴사한 보다 큰 황백화 반점을 갖는다.

[0202] 4: 40%의 떡잎 영역이 괴저성이고; 25% 미만의 잎 영역이 괴저성이다.

[0203] 5: 50%의 떡잎 영역이 괴저성이고; 50% 미만의 잎 영역이 괴저성이지만, 유착성은 아니다.

[0204] 6: 60%의 떡잎 영역이 괴저성이고; 25%의 잎 표면 상에 유착성 괴저성 영역이 존재한다.

[0205] 7: 70%의 떡잎 영역이 괴저성이고; 유착성 괴저성 영역이 50%의 잎 표면에 존재한다.

[0206] 8: 떡잎 및 잎 상에서, 잎자루 근처의 조직만이 여전히 녹색이다.

[0207] 9: 떡잎 및 잎이 완전히 괴저성이다.

[0208] 대조군 식물주에 대한 및 맵핑 집단에서 질병의 대표적인 수준을 도 3-4에 제시한다.

[0209] **실시예 7: API 및 VJ 식물 집단의 QTL 맵핑 분석을 위한 방법**

[0210] PI190788과의 교배로부터 유래된 2개의 추가의 맵핑 집단에 대한 질병 시험으로부터 얻은 데이터에 대해 QTL 맵핑 분석을 수행하였다. API 집단에 대해, 174개의 유전자형 및 표현형 결정된 식물주에 걸친 971개의 맵핑된 SNP 마커를 이용하였다. VJ 집단에 대해, 168개의 유전자형 및 표현형 결정된 식물주에 걸친 964개의 맵핑된 SNP 마커를 사용하였다. 예시적인 유전자 마커가 표 13에 열거되어 있고, 도 5는 염색체 5, 4, 및 2에 편재하는 이들 마커의 위치를 개략적으로 도시한다. QTL 카르토그래피 v1.17로 QTL-맵핑 분석을 수행하였다 ([Basten et al., 1994]; 및 [Basten et al., 2004]). 사용된 프로그램은 LRmapqt1, SRmapqt1, MImapqt1, MultiRegress, JZmapqt1이었다. 모든 2개의 집단 x 6개 위치 (=12개 데이터세트)를 독립적으로 분석하였다.

[0211] LRmapqt1을 사용하여 1 cM 간격에서 간격 맵핑을 수행하였다. 프로그램을 위해 사용된 파라미터는 M = 3; d = 1; c = 0; r = 0이었다. SRmapqt1을 사용하여 전향-선택을 사용한 단계적 회귀 맵핑, 이어서 후향-제거를 수행하였다. 마커는 전향-선택 단계에 대해 P<0.001에서 모델에 포함되고 후향-제거 단계에 대해 P>0.001에서 모델로부터 배제되었다. 모델에 이미 존재하는 마커의 10 cM 내의 마커는 추가의 분석으로부터 배제되었다. 프로그램을 위해 사용된 파라미터는 M = 2; F = 0.001; B = 0.001; u = 10이었다.

[0212] 다중 간격 맵핑을 사용하여 다중 간격에서 다중 QTL을 검색하였다. JZmapqtl을 먼저 사용하여 1 cM 간격에서 유전자형 빈도를 추정하였다. 프로그램을 위해 사용된 파라미터는 $I = 30$; $M = 9$; $d = 1$ 이었다. 이어서, 상가적 및 우성 효과 모두에 대해 모든 1 cM 간격에 대한 단계적 회귀 시험을 사용하여 초기 세트의 추정 QTL을 추정하기 위해 MultiRegress를 사용하였고, QTL은 $P < 0.0001$ 에서 초기 모델에 포함된다. 모델에 이미 포함된 추정 QTL의 20 cM 내의 시험 부위는 추가의 분석에서 배제된다. 프로그램을 위해 사용된 파라미터는 $c = 0$; $S = 0.0001$; $w = 10$; $u = 20$; $I = 30$ 이었다. MImapqtl을 사용하여, MultiRegress에서 확인된 초기 모델로부터의 비-유의한 추정 QTL을 시험하고 제거하였다 ($-I = \text{sMPrtseC}$). 이 단계에서, QTL의 최대 수는 5로 제한되고 ($-q = 5$), 추정 QTL은 정보 기준의 변화가 < 13.825 (3 LOD에 상응)일 경우 제거된다. 이어서, QTL 위치 ($-I = \text{sMPrtseC}$)를 세밀하게 확인하고, 임의의 새로운 QTL ($-I = \text{sMPrtseC}$)을 검색하기 위해 MImapqtl을 사용하였다. 이 단계에서, QTL의 최대 수는 5로 제한되었고 ($q = 5$), 추정 QTL은 정보 기준의 변화가 > 13.825 (3 LOD에 상응)일 경우 추가될 것이다. 추정 QTL ($I = \text{sMPrtseC}$) 사이의 상위성 (epistatic) 상호작용의 검색도 수행하였다. 이 단계에서, 상위성 용어는 정보 기준의 변화가 > 0.0001 일 경우 모델에 포함될 것이다. QTL 카르토그래피 결과의 분석을 포함하는 다른 모든 분석을 R을 사용하여 수행하였다 (R Development Core Team, R: A Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, 2009). 방식의 평가를 위해, 질병 $\sim \text{QTL1} + \text{QTL2} + \text{QTL4}$.

[0213] **실시예 8: API 및 VJ 집단에 대한 QTL 맵핑 결과**

[0214] 2 집단 x 6 위치 실험에 걸쳐 총 23개의 외견상 QTL 간격 (2-LOD 간격 5 LOD QTL 피크)이 확인되었다. 이들 중 많은 간격은 집단 및/또는 위치 간에 중첩되고, 각각 염색체 5, 4, 및 2에 맵핑되는 QTL 1, QTL 2, 및 QTL 4로 불리는 3개의 QTL이 추가의 분석을 위해 확인되었다. 이용되는 마커를 그의 위치와 함께 표 13에 제시하며, QTL에 대한 대략적인 지도 위치도 표 15에 제시된다.

[0215] 6개의 지리적인 위치 중 적어도 3개의 위치에서 재배된 두 맵핑 집단에서 확인된 염색체 5 상의 QTL 1 및 염색체 4 상의 QTL 2가 특히 관심의 대상이고, 이것은 상이한 유전적 배경 및 환경 조건에서 상기 2개의 QTL의 강건성을 시사한다. 개별적인 상가적 대립유전자 효과의 평균은 QTL 1에서 0.62 (0.32 - 1.26) 및 QTL 2에서 0.62 (0.47 - 0.93)이다. 따라서, 두 QTL에서 두 저항성 대립유전자를 갖는 개개의 식물은 $0.62 \times 2 + 0.62 \times 2 = 2.48$ 의 질병 등급의 감소를 가질 것으로 보인다. 개별적으로, 각각의 상기 2개의 QTL에 의해 설명되는 표현형 변이의 평균적인 양은 24% (QTL 1) 및 21% (QTL 2)이고, 나머지 76% - 79%는 다른 유전적 효과 및 환경적 (비-유전적) 효과에 의한 것이다.

[0216] 음성 상가적 효과 (즉, 보다 높은 질병 점수를 갖는 저항성 유전자형)는 터키에서 재배된 VJ 집단에서 염색체 2, 위치 21.8 - 73.8 cM에서 확인되었으며, 이는 QTL 4에 상응한다. 또한, 동일한 QTL이 님 및 태국에서 재배된 상기 동일한 VJ 집단에서 확인되었지만, 상가적 효과는 양성이었다. 따라서, 터키 데이터세트에서 확인된 음성 상가적 효과는 인위적인 결과가 아니라, 유전자형 x 환경적 효과의 존재를 시사한다.

표 15

6개 위치에 걸친 2개의 맵핑 집단에 대한 간격 맵핑 결과의 요약.

QTL #	염색체	대략적인 간격 (cM)	맵핑 집단	위치의 수	상가적 효과	R^2
1	5	22.6 - 81.0 (58.4)	둘 모두	6	0.32 - 1.27	12 - 39%
2	4	37.7 - 87.6 (49.9)	둘 모두	3	0.47 - 0.93	13 - 28%
4	2	21.8 - 73.8 (52.0)	VJ	3	-0.49 - 0.61	12 - 20%

[0217]

[0218] 표 15에 제시된 QTL 간격은 간격 맵핑에 의해 확인되었다. 각각의 간격은 컨센서스 오이 유전자 지도 상의 염색체 위치 (예를 들어 [Ren et al., 2009])가 표시되는 특유한 식별자 (QTL #)로 표시된다. QTL 간격은 API 및 VJ 맵핑 집단 중의 하나 또는 둘 모두에서 및 시험이 수행된 6개의 지리적인 위치 중의 하나 내지 6개에서 확인될 수 있다. 상응하는 QTL에 의한 상가적 대립유전자 효과 및 표현형 변이의 비율 (R^2)의 범위도 표시된다.

- [0219] 확인된 3개의 QTL (QTL 1, 2, 및 4로 칭함)에 상응하는 예시적인 SNP 마커를 표 13에 제시한다. 상기 QTL은 각각 염색체 5, 4, 및 2에 위치한다. 간격 맵핑 접근법에 의해 확인된 23개의 추정 QTL 간격 중에서, 표 16 및 21에 제시된 그의 예는 전향-선택-후향 제어를 사용한 단계적 회귀 접근법에 의해 확인되었다. 확인되지 않은 2개의 추정 QTL은 염색체 4 상의 QTL 2 또는 염색체 5 상의 QTL 1에 상응하지 않았다.
- [0220] 다중 간격에서 다중 QTL의 공동 효과를 평가하기 위해서, 모든 데이터세트에 대해 다중 간격 맵핑을 수행하였다. 그 결과는 다시 QTL 1 (염색체 5에 위치) 및 QTL 2 (염색체 4에 위치)를 확인하였다. QTL 1은 위치의 대부분 (5/6)에서 재배된 API 및 VJ 위치 모두에서 확인되었고 (표 17), 이것은 상기 QTL 간격이 유전적 배경 및 환경적 차이 둘 모두에 비추어 강건함을 시사한다. 이와 반대로, QTL 2는 3개의 위치에서 재배된 API 집단에서 및 터키에서 재배된 VJ 맵핑 집단에서 확인되었고 (표 17), 이것은 상기 QTL의 효과가 유전적 배경에 의존적일 수 있음을 시사한다.
- [0221] QTL 2와 대조적으로, 염색체 2 상의 QTL 4는 6개의 위치 중 3개 위치에서 재배된 VJ 집단에서 및 터키에서만 재배된 API 집단에서 확인되었다. 이것은 QTL 2가 API 배경에 특이적일 수 있는 반면에, QTL 4는 VJ 배경에 특이적일 수 있음을 시사한다. 흥미롭게도, QTL 4의 대립유전자 효과는 QTL 2가 또한 모델에 존재할 때 (터키에서 재배된 두 맵핑 집단 모두에서) 음성으로 되고, 이것은 가능하게는 (1) QTL 2와 QTL 4 사이의 서로 대립되는 효과, 또는 (2) QTL 4에서의 음성 효과가 터키의 시험 부위에서 발견되는 환경 조건에 특이적인 것을 시사한다. 모델의 평가: 다른 데이터세트에 대한 질병 ~ QTL1 + QTL2 + QTL4는 3개의 모든 QTL이 양성 상가적 효과를 가져야 함을 시사하고 (또한 표 18 참조), 이것은 두번째의 설명이 보다 가능성이 높음을 의미한다.
- [0222] 상위성 상호작용은 2개의 터키 데이터세트에서만 확인되었고, 단지 상가적 x 상가적 (additive-by-additive) 효과만이 확인되었다. 상호작용은 주요 QTL 간격 QTL1, QTL2, 및 QTL4 사이에서 이루어졌다. 상위성 상호작용은 터키 데이터에서만 확인되고 상기 데이터세트에서 QTL4의 음성 효과 때문에, 이 시점에서 QTL1과 QTL2 사이의 음성 상가적 x 상가적 효과도 터키-특이적인지의 여부는 불분명하다.

표 16

6개의 위치에서 재배된 2개의 맵핑 집단에 대한 다중 간격 맵핑에 의해 확인된 QTL.

집단	데이터세트	위치	QTL1	QTL2	QTL4	QTL1 x QTL2	QTL2 x QTL4	R ²
VJ	1	터키	0.61	0.47	-0.46	-0.23		0.67
	2	넴	0.58		0.36			0.52
	3	태국	0.59		0.65			0.29
	4	네덜란드						0.16
	5	인도	0.47					0.36
	6	넬다	1.28					0.33
API	7	터키	0.47	0.57	-0.45	-0.22	0.23	0.56
	8	넴	0.69	0.49				0.66
	9	태국	0.74	0.90				0.47
	10	네덜란드	0.32					0.15
	11	인도	0.52					0.32
	12	넬다						--

- [0223]
- [0224] 적어도 하나의 실험에서 확인된 총 8개의 특유한 QTL 간격 중에서, QTL 1, 2, 및 4를 표 16-17에 제시하고, 그의 상응하는 유전자 위치는 표 15에 나타낸다. 표 16에서, 마지막 컬럼 R²는 유전자 모델에 의해 설명되는 관찰된 표현형 변이의 추정된 비율이다. 표 16의 데이터세트 2, 4, 5, 및 8에 대해, 본 실험의 모델 (행)에서 QTL (컬럼)에 의해 설명되는 관찰된 변이의 비율 분석에 작은 추정 QTL이 포함되었고, 수치는 추정된 상가적 대립유전자 효과 (QTL1 x QTL2, 또는 QTL2 x QTL4의 경우에 상가적 x 상가적)이다.
- [0225] 실시예 3, 표 10-11, 및 도 1에 기재된 DM-저항성 QTL을 확인하기 위해 사용된 것과 같은, 특히 RAPD 유전자 마커 CAPS_ENK59를 함유하는 오이 DNA 클론으로부터의 게놈 서열을 오이 게놈 지도에 정렬시켜, 오이 게놈 내에서 그들의 위치를 결정하였다. 서열은 씨퀀처 (Sequencher) (진 코즈 코프. (Gene Codes Corp., 미국 미시건주 앤 아버))를 사용하여 정렬하였고, 이들은 13개의 콘텍 내에 있는 것으로 밝혀졌다 (11개의 좌위는 완전히 조립되고, 1개의 좌위는 2개의 콘텍 상에 조립된다). 이어서, BLAST 및 GMAP (제넨테크 (Genentech, 미국 캘리포니

아주 사우쓰 샌프란시스코))를 이용하여 이들 서열을 오이 게놈 물리적 서열 스케폴드 지도 상에 정렬시켰고, RAPD 마커 위치 (CAPS로 전환됨)는 서열 유사성을 기초로 하여 통합된 물리적-유전자 지도에 배치되었다. 추가로, 실시예 3에 기재된 바와 같이 루신데 x PI197088 교배로부터 유래된 식물주의 QTL 분석을 기초로 한 선행 맵핑 실험에서 원래 규정된 QTL과 연관된 것으로 밝혀진 CAPS_ENK59, UBC12-1200, 및 AL10-850 마커도 새로 확인된 QTL에 비해 이들이 어디에 위치하는지 결정하기 위해 새로운 API 및 VJ 맵핑 집단에서 추적되었다. 두 접근법을 통해, 실시예 3의 원래 확인된 QTL이 QTL 1과 함께 위치하고, 도 5에 제시된 바와 같이 염색체 5에 위치한다는 것이 밝혀졌다. 마커 NN0246677은 유전적으로 규정된 QTL 내에서 도 5의 각각의 API- 및 VJ-유래된 염색체 지도의 위치 43.8 또는 47.8 주변에 각각 위치한다. 이것은 초기 실험에서 이용된 CAPS_ENK59로부터의 일부 유전자 거리이지만, 상기 QTL (즉, QTL 1)과 동시 분리되는 것으로서 확인된 마커가 상이한 맵핑 집단에서 확인되었고, 특히 초기 실험에서는 보다 적은 마커의 유전자형이 결정되었고, 후속적으로 SNP 마커, 예를 들어 NN0246677과 함께 이용된 것보다 더 적은 표현형 결정 반복 시험이 수행되었다. 따라서, 원래의 맵핑 집단은 보다 적은 재조합 사건을 포함하였고, 이에 의해 보다 멀리 있는 마커가 DM-저항성 QTL과 유의한 상관관계를 보이는 연관 블록 내에 보다 빈번하게 유지될 수 있었다. 상이한 집단에서 QTL 분석은 또한 상이한 수준의 통계상 유의성을 가졌고, 그에 따라 다소 상이한 지도 위치를 생성하였다.

[0226] 맵핑 집단 및 지리적인 위치의 다양한 조합에 특이적인 추가의 추정 QTL이 또한 확인되었지만, 위치 및/또는 맵핑 집단에 걸친 반복성의 결여는 이들 QTL이 반복가능한 검출을 위한 전체 표현형 변이에 거의 기여하지 않음을 가능성 있게 시사한다.

[0227] 각각의 2 집단 x 6 위치 실험에 대해 4-LOD QTL 피크에서 2 LOD 간격으로의 간격 맵핑 결과의 요약을 표 17에 제시한다. Chr: 염색체; 시작: 2-LOD 간격의 좌측 위치 (cM); 종점: 2-LOD 간격의 우측 위치 (cM); LR: 대립 (H3) 및 귀무 (H0) 가설 사이의 가능성 비 (여기서 H3 = 시험 부위에서 상가적 및 우성 대립유전자 효과를 갖는 QTL의 존재 및 H0 = 시험 부위에 QTL 부재); a: 상가적 대립유전자 효과; d: 우성 대립유전자 효과; R^2 : 시험 부위에서 추정 QTL에 의해 설명되는 변이의 비율; SR: 동일한 QTL이 단계적 회귀 접근법에 의해 검출되었는지의 여부; MIM: 추정 QTL이 다중 간격 맵핑 접근법에 의해 검출되었는지의 여부.

표 17

간격 맵핑 결과.

집단	위치	염색체	시작	종점	LR	a	d	R^2	SR	MIM
VJ	넴	2	21.77	66.48	21.53	0.41	0.23	0.12	Y	Y
VJ	터키	2	39.45	48.76	36.46	-0.48	0.14	0.20	Y	Y
VJ	태국	2	46.76	73.80	28.79	0.61	-0.58	0.16	Y	Y
VJ	터키	4	37.65	73.98	32.79	0.47	-0.02	0.18	Y	Y
API	넴	4	46.65	71.65	38.00	0.56	0.18	0.22	Y	Y
API	터키	4	55.82	79.93	43.23	0.53	-0.27	0.22	Y	Y
VJ	태국	4	57.50	87.57	21.85	0.58	-0.08	0.13	Y	-
API	태국	4	74.98	81.98	51.79	0.93	0.25	0.28	Y	Y
API	터키	5	22.58	56.40	27.88	0.43	-0.42	0.16	Y	Y
API	인도	5	26.64	30.31	59.67	0.52	0.15	0.32	Y	Y
API	네덜란드	5	33.84	77.66	24.21	0.32	-0.13	0.15	Y	Y
VJ	태국	5	40.37	55.81	20.24	0.55	0.22	0.12	Y	Y
API	태국	5	44.71	56.40	34.46	0.79	0.55	0.22	Y	Y
API	넴	5	44.71	55.40	70.72	0.71	0.04	0.39	Y	Y
VJ	넴	5	46.19	55.81	45.75	0.61	0.13	0.25	Y	Y
VJ	터키	5	53.10	80.70	51.56	0.57	0.29	0.27	Y	Y
VJ	인도	5	53.10	80.95	35.43	0.45	0.13	0.19	Y	Y
VJ	펠다	5	76.71	80.95	58.81	1.26	0.48	0.33	Y	Y

[0228]

[0229] 모델 $QTL1 + QTL2 + QTL4$ 에 의해 설명되는 질병의 계수를 계산하기 위해 선형 회귀를 또한 이용하였다 (표 18 참조). 항상 저항성 식물주에 대하여 표현형의 변화를 비교하는 QTL 카르토그래피와는 달리, 표 19의 계수 값은 1 (저항성) 내지 9 (감수성)의 질병 등급의 변화에 직접적으로 대응한다. 따라서, 양의 계수는 감수성의 증가를 시사한다.

표 18

선형 회귀를 사용하여 얻은 질병의 계수.

집단	위치	절편	QTL1	QTL2	QTL4
VJ	터키	8.6	-0.56	-0.41	0.45
VJ	태국	8.8	-0.28	-0.51	-0.46
VJ	넴	8.9	-0.51	-0.29	-0.39
VJ	네덜란드	6.3	-0.12	-0.03	-0.05
VJ	인도	9.6	-0.44	-0.15	-0.13
VJ	벨라루스	9.4	-1.26	-0.20	-0.08
API	터키	8.1	-0.40	-0.54	0.40
API	태국	7.0	-0.55	-0.65	0.06
API	넴	6.9	-0.54	-0.37	-0.01
API	네덜란드	5.5	-0.22	0.05	-0.02
API	인도	9.2	-0.38	-0.18	0.09
API	벨라루스	6.6	-0.05	-0.54	0.31

[0230]

[0231] 실시예 9: SSR-기반 오이 유전자 지도에 대한 SNP 마커의 정렬

[0232]

추가적 마커에 대해 QTL의 맵핑을 위해, 정보학 접근법에 의해 표 13의 SNP 마커를 문헌 [Ren et al. (PLoS ONE 4:e5795, 2009; doi:10.1371/journal.pone.0005795)]에 의해 사용된 SSR 마커와 정렬시켰다. 먼저, 렌 (Ren) 등의 SSR 마커를 규정하는 16-25 bp 프라이머 서열을 BLAST를 이용하여 상응하는 오이 스캐폴드 서열 (게놈 단편)과 정렬시켰다. 전체 프라이머 서열 쌍 (즉, 전방향 및 역방향 프라이머 모두)을 포괄하는 완전한 정렬을 필터링하여 전방향 및 역방향 프라이머가 서로 적절하게 대면하는 것을 시사하지 않은 임의의 외관상 완전한 정렬을 제거하고, 남아있는 스캐폴드 위치를 SSR-기반 지도 정보와 합병하였다. 예상된 바와 같이, 일부 SSR 서열이 >1 스캐폴드 위치에 위치하였기 때문에, 574개의 SSR 마커가 591개 스캐폴드 게놈 단편 서열에 위치하는 것으로 추정되었다. 보고된 전방향 및 역방향 SSR 프라이머 위치 사이의 차이에 대한 50 bp 또는 그 미만의 크기 차이 역치 및 스캐폴드 서열에 의해 표시되는 맵핑된 거리를 사용하여, 550개 SSR 마커 (566개의 맵핑된 위치를 가짐)는 신뢰할 수 있게 맵핑된 것으로 간주되었다. 이어서, 상기 SSR 데이터를 스캐폴드 ID와 함께 분류하고, 다른 이용가능한 내부 마커의 위치와 합병하였다. 마지막으로, 일치하지 않는 마커 위치를 표시하고, 나머지 SSR 유전자 위치를 SNP 마커 및 게놈 스캐폴드 서열을 사용하여 구축한 컨센서스 유전자/물리적 지도에 고정시켰다. 표 19는 문헌 [Ren et al. (2009)]의 유전자 지도와 직접 비교될 수 있는, 염색체 2, 4, 및 5의 SNP 및 SSR 마커의 지도 위치를 나열한 것이다. 표 19에 굵은 글씨로 나열된 SSR 및 다른 공개 마커는 확인된 QTL 영역에 위치하거나, 또는 상기와 같은 영역으로부터 약 10 cM 또는 그 미만에 위치하고, DM 저항성을 가지면서 함께 분리될 것으로 예상된다. 표 19에 나열된 바와 같은 SNP 및 SSR 마커의 맵핑은 공개적으로 이용가능한 유전자 지도를 사용하여 노균병 저항성에 연관된 게놈 영역에 위치하는 추가의 (예를 들어 공개적으로 이용가능한) 유전자 마커의 확인을 가능하게 한다. 표 19에서, 염색체 2의 DM 저항성 QTL은 SNP 마커 NN0223892 (지도 위치 22.3) 내지 SNP 마커 NN0226638 (지도 위치 88.4)에 의해 규정되는 영역을 차지하는 것으로서 규정된다. 염색체 4의 DM 저항성 QTL은 SNP 마커 NN0227442 (지도 위치 20.6) 내지 SNP 마커 NN0227285 (지도 위치 87.4)에 의해 규정되는 영역을 차지하는 것으로서 규정된다. 염색체 5의 DM 저항성 QTL은 SNP 마커 NN0226553 (지도 위치 25.3) 내지 SNP 마커 NN0226391 (지도 위치 82.1)에 의해 규정되는 영역을 차지하는 것으로서 규정된다.

표 19

컨센서스 스캐폴드-기반 유전자 지도 상에 대한 SSR 마커의 정렬로부터
오이 염색체 2, 4, 및 5의 SNP ("NN0...") 및 SSR 마커의 유전자 지도 위치.
또한, 도 5 참조.

마커 명칭	염색체 #	지도 위치
NN0226713	2	0.0
NN0246869	2	1.3
NN0227534	2	1.5
NN0228688	2	1.5
NN0224222	2	1.6
NN0225653	2	1.6
NN0227319	2	1.6
NN0247117	2	1.6
NN0223201	2	1.6
NN0246545	2	2.8
NN0247432	2	2.8
NN0225708	2	3.3
NN0224023	2	3.3
NN0225478	2	3.7
NN0225481	2	3.7
NN0247128	2	3.9
NN0247110	2	4.2
NN0228683	2	4.6
NN0247397	2	4.6
NN0229107	2	5.0
SSR11952	2	5.9
NN0227776	2	5.9
NN0225556	2	5.9
NN0225149	2	5.9
NN0247714	2	6.9
NN0226409	2	7.0
NN0247374	2	7.0
NN0225817	2	7.2
SSR21090	2	7.5
NN0228345	2	7.5
NN0224358	2	8.1
NN0224778	2	8.1
NN0247591	2	8.8
NN0246816	2	9.7
NN0226190	2	10.2
NN0225911	2	10.2

[0233]

NN0224313	2	10.5
NN0224822	2	10.7
NN0225831	2	12.1
NN0224132	2	12.1
NN0224585	2	12.2
NN0224551	2	12.2
NN0226478	2	12.2
NN0226856	2	12.2
NN0228321	2	12.2
NN0225656	2	12.2
NN0246405	2	12.3
NN0247003	2	12.8
NN0226751	2	12.8
SSR00684	2	13.0
NN0229051	2	13.0
NN0247367	2	13.0
SSR16226	2	14.2
NN0225537	2	14.2
SSR03070	2	14.2
NN0225564	2	14.2
NN0246551	2	14.5
NN0224243	2	14.5
SSR00204	2	14.5
NN0223995	2	14.5
NN0246378	2	14.6
NN0228099	2	14.9
NN0227372	2	15.5
NN0246337	2	19.0
SSR00289	2	19.7
NN0227840	2	19.7
NN0227646	2	20.0
NN0228476	2	20.3
NN0224590	2	20.8
NN0228237	2	20.8
NN0247575	2	20.8
NN0227530	2	20.8
NN0227574	2	20.8
NN0224794	2	20.9
NN0224612	2	21.2
NN0224686	2	21.2
NN0224467	2	21.3
NN0228820	2	21.3
NN0225896	2	21.8
NN0223892	2	22.4
NN0223782	2	22.4
NN0227357	2	22.7
SSR22083	2	22.7
NN0227327	2	22.7
NN0247569	2	23.9
NN0223579	2	23.9
NN0226747	2	24.3
SSR23832	2	24.9

[0234]

NN0226337	2	24.9
NN0227615	2	25.4
NN0226084	2	25.4
SSR23220	2	25.4
NN0226279	2	26.5
NN0224105	2	26.5
SSR23420	2	26.5
NN0225385	2	27.5
NN0246831	2	28.8
NN0228374	2	28.8
NN0223545	2	29.2
NN0224897	2	29.2
NN0226707	2	29.5
NN0226670	2	30.1
SSR01374	2	30.1
SSR22338	2	30.1
NN0223657	2	30.1
NN0247784	2	30.7
NN0225380	2	30.7
NN0223661	2	30.7
NN0247123	2	30.7
NN0228011	2	32.1
NN0228058	2	32.1
NN0224124	2	32.4
NN0246849	2	33.5
NN0226619	2	33.7
NN0247070	2	34.7
NN0226477	2	35.3
NN0223707	2	35.5
NN0227659	2	35.5
NN0227441	2	35.5
NN0223443	2	35.5
NN0223203	2	35.5
NN0226267	2	35.7
NN0224422	2	36.1
NN0227137	2	36.6
NN0246472	2	38.4
NN0224359	2	38.4
NN0228139	2	38.7
NN0227805	2	43.5
NN0247413	2	43.5
NN0223478	2	43.8
SSR02569	2	43.8
SSR07108	2	43.8
NN0227538	2	43.8
NN0247197	2	44.4
SSR11512	2	44.4
NN0226250	2	45.0
NN0224063	2	45.3
NN0228486	2	45.3
NN0224233	2	45.3
NN0223285	2	45.3

[0235]

NN0223271	2	45.3
SSR00218	2	50.3
NN0225358	2	50.3
NN0224573	2	51.6
NN0226986	2	51.6
NN0224027	2	51.7
NN0228028	2	51.7
SSR17814	2	52.8
SSR12083	2	52.8
NN0225190	2	52.8
NN0246702	2	53.3
NN0224844	2	53.9
SSR16941	2	55.5
SSR11468	2	55.5
SSR22227	2	55.5
NN0227695	2	55.5
NN0227700	2	55.6
NN0228748	2	56.1
NN0246318	2	56.4
NN0247210	2	56.4
SSR02634	2	56.4
NN0223380	2	56.4
NN0223398	2	56.4
NN0247233	2	56.9
NN0246696	2	57.4
NN0223463	2	57.6
SSR23732	2	57.6
NN0223494	2	57.6
NN0223465	2	57.7
NN0224617	2	58.0
NN0224658	2	58.3
SSR05492	2	59.5
NN0246763	2	59.5
NN0224594	2	60.9
SSR02322	2	66.5
SSR07278	2	66.5
SSR11909	2	66.5
SSR16135	2	66.5
SSR22653	2	66.5
NN0247695	2	66.5
SSR00009	2	67.0
SSR06913	2	67.0
NN0227962	2	67.0
NN0226717	2	67.1
NN0247305	2	67.2
NN0226038	2	68.0
NN0225776	2	68.5
NN0247544	2	69.7
NN0227412	2	69.8
NN0247350	2	69.9
NN0247798	2	70.0
SSR13131	2	70.0

[0236]

NN0228560	2	70.0
NN0226406	2	72.4
SSR21734	2	73.2
NN0227242	2	73.2
SSR00507	2	73.7
NN0247636	2	73.7
NN0226006	2	73.8
SSR15873	2	74.6
NN0225709	2	74.6
NN0224913	2	74.6
SSR12227	2	76.3
SSR18362	2	76.3
NN0228448	2	76.3
SSR21655	2	78.0
SSR05420	2	78.0
SSR19851	2	78.0
NN0225027	2	78.0
NN0225018	2	78.0
NN0227692	2	78.5
NN0247139	2	78.5
NN0223317	2	78.8
NN0223824	2	78.9
NN0223452	2	79.5
NN0246284	2	79.7
NN0246771	2	79.7
NN0223209	2	79.7
NN0223221	2	79.7
NN0226547	2	79.8
NN0247618	2	80.3
SSR01253	2	80.5
NN0228741	2	80.5
NN0226471	2	80.5
NN0226327	2	81.0
NN0226885	2	81.6
NN0246708	2	81.6
NN0228685	2	81.6
NN0228974	2	81.7
NN0246681	2	82.1
NN0226957	2	82.4
NN0223181	2	82.4
SSR21276	2	83.0
NN0227214	2	83.0
NN0225257	2	84.4
NN0223574	2	85.8
NN0226638	2	88.4
NN0226673	2	88.5
NN0228750	2	88.6
NN0246924	2	90.4
SSR30665	2	91.5
NN0224981	2	91.5
NN0224804	2	91.5
SSR13754	2	96.1

[0237]

SSR16462	2	96.1
NN0223703	2	96.1
SSR16028	2	96.1
NN0247710	4	0.0
NN0247539	4	0.0
NN0247697	4	0.4
SSR07782	4	0.4
NN0228009	4	0.4
NN0224680	4	0.7
NN0226973	4	2.4
SSR01949	4	4.1
SSR07209	4	4.1
NN0247583	4	4.1
NN0228802	4	4.1
SSR19115	4	4.4
NN0246810	4	4.4
NN0228736	4	4.4
NN0247706	4	5.2
SSR14498	4	5.2
NN0225810	4	6.3
NN0224596	4	6.3
NN0225493	4	6.3
NN0247492	4	6.6
SSR19380	4	9.6
SSR21062	4	9.6
NN0225975	4	9.6
SSR22231	4	9.6
NN0224796	4	9.8
NN0224711	4	9.8
NN0228893	4	9.8
SSR11074	4	12.5
SSR17427	4	12.5
NN0223763	4	12.5
NN0225383	4	14.4
NN0228856	4	14.5
NN0228862	4	14.5
NN0246870	4	20.0
NN0225260	4	20.3
SSR00012	4	20.6
NN0227442	4	20.6
NN0223863	4	20.6
NN0225012	4	20.6
SSR17024	4	21.7
NN0226079	4	21.7
NN0247573	4	21.7
NN0228250	4	21.9
NN0246309	4	22.1
NN0246393	4	24.6
NN0229054	4	25.4
NN0225572	4	25.5
SSR13023	4	25.5

[0238]

NN0228579	4	25.8
SSR22706	4	25.8
NN0225143	4	25.8
NN0224450	4	26.8
NN0226440	4	27.9
NN0226451	4	27.9
NN0223404	4	28.7
NN0226964	4	28.7
NN0225345	4	29.7
NN0226204	4	29.8
NN0223589	4	29.8
NN0227018	4	29.9
NN0247182	4	30.1
NN0227010	4	30.1
NN0247596	4	30.1
NN0226074	4	30.1
SSR02803	4	30.4
SSR07236	4	30.4
NN0225088	4	30.4
NN0225150	4	30.4
NN0224867	4	30.5
NN0224838	4	30.5
NN0224343	4	30.5
SSR21240	4	30.5
SSR33769	4	30.5
NN0229028	4	30.5
NN0224864	4	30.5
NN0227999	4	31.3
NN0228029	4	31.3
NN0227972	4	31.5
NN0224664	4	31.9
NN0223316	4	31.9
NN0224593	4	31.9
NN0247603	4	31.9
SSR16892	4	33.0
NN0226218	4	33.0
NN0226219	4	33.0
NN0247330	4	33.0
NN0224445	4	33.9
NN0227979	4	33.9
NN0224221	4	34.4
NN0223413	4	35.3
NN0224932	4	35.5
NN0224414	4	35.5
NN0224320	4	35.5
NN0228842	4	35.5
NN0228836	4	35.5
NN0247551	4	35.5
NN0227183	4	35.5
NN0247666	4	35.6
NN0227879	4	35.8
NN0224535	4	35.8

[0239]

NN0246369	4	35.8
NN0223339	4	35.8
SSR01904	4	36.5
SSR16847	4	36.5
NN0223895	4	36.5
NN0228796	4	37.3
SSR19044	4	37.3
NN0223620	4	37.5
NN0247100	4	37.6
NN0247134	4	37.6
NN0246357	4	40.3
NN0246914	4	40.3
NN0225107	4	40.5
SSR15731	4	42.1
SSR21644	4	42.1
NN0247712	4	42.1
NN0224464	4	42.6
NN0228630	4	43.2
NN0224762	4	43.4
NN0224390	4	44.5
NN0229090	4	44.5
NN0247725	4	45.8
NN0246832	4	46.0
NN0224211	4	46.0
NN0225000	4	46.5
NN0225070	4	46.6
NN0225551	4	46.6
NN0247208	4	47.4
NN0225339	4	48.1
SSR04385	4	49.5
NN0228715	4	49.5
NN0228035	4	49.8
NN0226692	4	49.9
NN0224961	4	49.9
NN0226732	4	50.0
NN0227475	4	50.3
NN0225125	4	50.3
NN0226656	4	50.5
NN0227120	4	50.5
NN0227873	4	50.5
NN0223888	4	50.5
NN0229056	4	50.5
NN0247743	4	50.5
NN0228883	4	50.8
SSR11043	4	51.9
NN0247689	4	51.9
NN0223084	4	53.7
SSR13456	4	53.7
NN0225084	4	53.9
NN0226586	4	53.9
NN0247529	4	54.5
SSR17270	4	54.5

[0240]

NN0247635	4	54.5
NN0247342	4	54.5
NN0247771	4	54.5
NN0228536	4	54.8
NN0223375	4	56.2
NN0226446	4	56.9
NN0224702	4	62.4
NN0224353	4	62.4
NN0227422	4	62.4
NN0228031	4	62.4
NN0227154	4	62.4
NN0223414	4	62.4
NN0224265	4	65.5
SSR05125	4	65.9
SSR07130	4	65.9
NN0224287	4	65.9
NN0226863	4	66.0
NN0228562	4	66.0
NN0224234	4	66.0
NN0247077	4	66.0
NN0225482	4	66.5
NN0225553	4	66.5
NN0224572	4	66.9
NN0224106	4	66.9
NN0224111	4	66.9
NN0228930	4	66.9
NN0223654	4	66.9
NN0225081	4	67.1
NN0223940	4	67.1
NN0227048	4	67.1
NN0246425	4	67.1
NN0224538	4	67.1
NN0228639	4	68.1
SSR21501	4	69.1
NN0225543	4	69.1
NN0228032	4	69.1
NN0226556	4	69.1
NN0226509	4	69.9
NN0227631	4	71.0
NN0227617	4	71.0
NN0223626	4	71.6
NN0223094	4	71.6
NN0223832	4	71.6
NN0247543	4	72.0
NN0224652	4	74.4
SSR07269	4	74.4
NN0224067	4	75.8
NN0226776	4	75.8
NN0227379	4	75.8
NN0227315	4	75.8
NN0224041	4	75.8
SSR00299	4	75.8

[0241]

NN0228602	4	75.8
NN0223124	4	76.6
NN0223103	4	77.5
NN0225814	4	78.5
NN0228853	4	78.9
NN0227015	4	78.9
NN0223942	4	79.9
NN0246738	4	81.7
NN0224495	4	82.0
SSR01552	4	84.4
NN0225766	4	84.4
NN0247668	4	84.4
SSR22948	4	84.4
NN0226086	4	84.4
SSR04534	4	84.4
NN0223539	4	84.6
NN0227261	4	84.6
NN0227251	4	84.6
NN0226226	4	85.1
NN0246452	4	85.7
NN0226543	4	85.9
NN0227762	4	85.9
NN0247486	4	85.9
SSR07550	4	86.2
NN0224069	4	86.2
NN0227587	4	87.4
NN0227182	4	87.4
NN0227279	4	87.4
NN0227285	4	87.4
NN0247726	4	87.6
SSR13159	4	87.6
NN0247782	4	87.6
NN0225419	4	88.0
NN0227265	4	88.0
NN0223422	4	88.2
NN0246417	4	88.2
NN0247615	4	88.7
NN0247555	4	88.7
NN0227211	4	88.7
SSR07543	4	89.4
NN0226481	4	89.4
NN0226465	4	89.6
NN0224223	4	90.0
NN0226865	4	90.0
SSR17406	4	91.3
NN0228648	4	91.3
SSR14257	4	91.3
NN0225826	4	91.6
NN0224777	4	92.0
NN0224050	4	92.4
NN0227419	4	92.9
NN0228716	4	92.9

[0242]

NN0223906	4	92.9
NN0227718	4	94.3
SSR16315	4	94.3
NN0227942	4	94.5
NN0247421	4	94.5
NN0225077	4	94.5
NN0223715	4	94.5
NN0223710	4	94.5
NN0228566	4	94.7
NN0225541	4	94.7
NN0225476	4	94.7
NN0227586	4	95.7
NN0225015	4	96.5
NN0228246	4	96.6
SSR02233	4	96.7
NN0225079	4	96.7
NN0226312	4	96.7
NN0227403	4	96.7
SSR23770	4	96.7
NN0223754	4	97.3
NN0223896	4	97.5
NN0226628	4	97.8
NN0225404	4	98.0
NN0225471	4	98.0
NN0224793	4	98.0
NN0226220	4	98.0
NN0225734	4	98.1
NN0226011	4	98.2
NN0225208	4	98.2
NN0228805	4	98.2
NN0223571	4	98.4
NN0224125	4	98.4
NN0224127	4	98.4
NN0246631	4	98.4
SSR16292	4	98.9
SSR29080	4	98.9
NN0246416	4	98.9
NN0246722	4	99.7
NN0246308	4	99.7
NN0247688	4	99.7
NN0247613	4	100.1
SSR22155	4	100.2
NN0225987	4	100.2
NN0247623	4	100.4
NN0223759	4	100.5
NN0227111	4	100.5
NN0223284	4	100.6
NN0223295	4	100.6
NN0224972	4	100.6
NN0246321	4	100.6
NN0226554	4	100.6
SSR06347	4	100.6

[0243]

NN0228925	4	100.6
SSR15203	4	100.8
NN0226376	4	100.8
SSR21197	4	100.8
NN0226559	4	101.3
SSR14015	4	101.3
NN0225554	4	101.4
NN0223718	4	101.4
NN0223742	4	101.4
NN0227971	5	0.0
NN0226380	5	0.2
NN0224416	5	0.2
NN0224425	5	0.2
NN0247032	5	0.4
NN0227159	5	0.4
NN0227081	5	0.5
SSR14247	5	0.7
NN0227163	5	0.7
SSR17022	5	0.9
NN0247383	5	0.9
NN0227849	5	1.0
NN0247369	5	1.0
NN0227216	5	1.1
NN0227224	5	1.1
NN0226775	5	1.2
NN0226854	5	1.3
SSR13086	5	2.0
NN0227542	5	2.0
NN0224662	5	2.2
NN0223648	5	2.2
NN0223632	5	2.2
NN0228445	5	2.3
NN0229042	5	2.3
NN0223496	5	2.5
NN0225635	5	2.5
NN0224047	5	2.6
NN0223877	5	2.6
NN0224052	5	2.7
NN0227420	5	4.3
NN0223296	5	5.1
SSR22469	5	5.1
SSR19538	5	5.9
NN0224657	5	5.9
SSR02454	5	9.6
NN0225945	5	9.6
NN0226455	5	9.6
SSR12467	5	9.6
SSR19719	5	9.6
NN0226450	5	9.6
NN0226658	5	9.9
NN0224159	5	9.9

[0244]

NN0226797	5	9.9
NN0227362	5	9.9
NN0224785	5	9.9
NN0228078	5	9.9
NN0226536	5	9.9
NN0226528	5	9.9
NN0228505	5	10.0
NN0226756	5	10.0
NN0223780	5	10.0
NN0247311	5	10.2
NN0227594	5	10.2
SSR16032	5	10.2
NN0225849	5	10.2
NN0227145	5	10.2
SSR10002	5	10.3
SSR16842	5	10.3
NN0223450	5	10.3
NN0224763	5	14.2
NN0227468	5	14.6
NN0228918	5	14.6
NN0226418	5	14.6
NN0225926	5	14.6
NN0225883	5	14.6
NN0228145	5	14.7
NN0227295	5	14.7
NN0226387	5	14.7
NN0227584	5	15.0
NN0246349	5	15.1
NN0227168	5	15.8
SSR01859	5	15.8
NN0227165	5	15.8
SSR00023	5	16.1
NN0226433	5	16.1
SSR00398	5	16.1
NN0223950	5	16.4
SSR19998	5	16.4
NN0246612	5	17.6
NN0224029	5	17.6
SSR01610	5	17.6
SSR20648	5	17.6
NN0246303	5	17.6
SSR22172	5	17.6
NN0227653	5	17.6
NN0226303	5	17.6
NN0228175	5	17.7
SSR07369	5	17.7
NN0227913	5	18.9
SSR20208	5	18.9
NN0246687	5	18.9
NN0223949	5	18.9
NN0224861	5	18.9
NN0224841	5	18.9

[0245]

NN0223182	5	19.0
SSR10795	5	19.0
NN0225294	5	20.3
NN0225315	5	20.3
NN0229134	5	21.6
NN0227380	5	21.6
NN0225199	5	21.7
NN0225904	5	21.7
NN0224426	5	21.8
NN0226415	5	22.2
NN0225222	5	22.8
SSR13639	5	22.8
NN0225428	5	22.8
NN0226841	5	22.8
SSR03341	5	24.5
SSR05819	5	24.5
SSR07559	5	24.5
NN0228879	5	24.5
NN0226553	5	25.3
NN0223140	5	25.3
NN0227540	5	25.3
NN0228457	5	25.6
NN0228069	5	26.2
SSR07057	5	26.7
NN0225531	5	26.7
SSR10348	5	26.7
SSR03950	5	28.1
SSR11167	5	28.1
NN0228895	5	28.1
NN0224856	5	29.0
NN0226092	5	29.9
NN0247223	5	30.1
NN0246356	5	30.4
NN0224773	5	31.1
NN0225532	5	31.2
NN0225517	5	31.2
NN0229077	5	31.2
SSR20895	5	31.2
NN0229137	5	31.2
NN0224304	5	31.7
NN0247509	5	31.7
NN0227435	5	31.7
NN0227405	5	31.7
SSR23615	5	31.9
SSR10542	5	31.9
SSR14051	5	31.9
SSR21861	5	31.9
NN0228317	5	31.9
NN0223802	5	32.3
SSR20487	5	32.3
NN0227305	5	33.2
SSR18593	5	33.5

[0246]

NN0223112	5	33.5
NN0228982	5	33.5
NN0247183	5	33.5
NN0246332	5	33.8
NN0224476	5	33.9
NN0224325	5	34.5
NN0227981	5	36.1
NN0247085	5	37.4
NN0226041	5	37.4
NN0226671	5	37.4
NN0224375	5	37.6
NN0223399	5	38.6
SSR23101	5	39.1
NN0224283	5	39.1
SSR11750	5	39.7
NN0224246	5	39.7
NN0247066	5	40.4
NN0228739	5	40.4
NN0228814	5	40.5
NN0225803	5	40.9
NN0247244	5	41.0
NN0223974	5	41.0
NN0224213	5	41.0
NN0224193	5	41.0
NN0224669	5	41.0
SSR07284	5	41.0
NN0227571	5	41.2
NN0227555	5	41.2
NN0227525	5	41.3
NN0223689	5	41.4
SSR14269	5	41.4
NN0223687	5	41.4
NN0226194	5	41.6
NN0226187	5	41.6
NN0227343	5	42.3
NN0227129	5	42.3
NN0228943	5	42.3
NN0228968	5	42.3
SSR19178	5	43.0
NN0225790	5	43.0
SSR10720	5	44.8
NN0224377	5	44.8
SSR12921	5	44.8
NN0226709	5	44.8
NN0246677	5	45.2
NN0224642	5	45.2
NN0247731	5	45.2
NN0224840	5	45.2
NN0226013	5	45.6
NN0227895	5	46.1
NN0224349	5	46.1
SSR15893	5	47.8

[0247]

NN0227665	5	47.8
NN0226326	5	48.9
NN0229099	5	48.9
NN0225940	5	48.9
NN0225518	5	49.0
NN0225544	5	49.1
NN0226346	5	49.2
NN0226508	5	49.2
NN0246770	5	49.3
SSR07711	5	49.4
SSR21291	5	49.4
NN0223897	5	49.4
SSR23148	5	49.4
SSR23132	5	49.4
SSR32717	5	49.4
NN0224455	5	49.4
SSR16110	5	49.4
NN0226166	5	50.0
NN0228693	5	51.7
NN0246672	5	51.7
NN0226430	5	51.7
NN0227495	5	52.3
NN0225480	5	53.2
NN0225654	5	53.2
NN0227497	5	53.2
SSR15321	5	53.3
NN0223392	5	53.3
NN0224442	5	53.7
NN0225103	5	54.3
NN0224698	5	54.3
NN0227581	5	55.5
NN0247308	5	55.6
NN0225661	5	55.9
NN0226631	5	55.9
NN0224600	5	55.9
NN0246411	5	56.1
NN0223215	5	56.2
NN0226316	5	56.2
NN0228725	5	56.3
NN0246410	5	56.3
NN0223921	5	56.5
NN0229142	5	56.8
NN0226764	5	57.4
NN0224228	5	57.7
NN0224229	5	57.7
NN0224406	5	58.3
NN0225311	5	58.6
NN0229148	5	59.9
Cs28	5	60.1
NN0227759	5	60.1
NN0223336	5	60.3
SSR15818	5	60.3

[0248]

NN0225562	5	60.3
NN0247548	5	60.6
NN0224461	5	60.7
NN0227603	5	60.7
NN0246604	5	60.9
NN0247389	5	60.9
NN0246347	5	61.4
NN0247348	5	61.9
NN0226809	5	62.6
NN0226762	5	62.6
NN0247445	5	62.7
NN0223334	5	67.1
NN0225936	5	68.4
NN0225451	5	68.4
NN0224327	5	68.4
NN0246449	5	68.4
NN0228465	5	68.4
NN0223507	5	68.6
SSR02244	5	68.6
NN0246335	5	69.1
SSR06660	5	69.1
NN0224251	5	69.6
SSR17464	5	69.6
NN0246571	5	69.6
NN0224832	5	71.1
SSR23706	5	71.3
SSR03529	5	71.3
SSR07184	5	71.3
NN0226931	5	71.3
NN0228305	5	71.6
NN0247786	5	71.8
SSR07100	5	71.8
NN0227082	5	71.8
SSR19172	5	71.8
NN0247485	5	71.9
NN0227153	5	72.5
SSR00772	5	72.5
NN0227421	5	72.5
NN0223866	5	72.5
SSR00670	5	73.6
SSR01498	5	73.6
SSR04816	5	73.6
NN0224048	5	73.6
SSR20859	5	73.6
NN0227318	5	73.9
NN0226912	5	74.1
NN0226871	5	74.4
NN0227924	5	74.4
NN0223640	5	74.4
NN0226104	5	74.4
NN0223518	5	75.1
NN0247794	5	75.1

[0249]

NN0226645	5	75.2
NN0223160	5	75.4
NN0227504	5	75.5
NN0228997	5	75.5
NN0226525	5	75.5
NN0224248	5	75.5
NN0224226	5	75.5
NN0228632	5	75.5
NN0247702	5	75.5
NN0229017	5	75.5
NN0225600	5	75.5
NN0223755	5	75.6
NN0225793	5	75.7
NN0226053	5	75.7
NN0246483	5	75.7
NN0246327	5	76.1
SSR14180	5	76.1
NN0226354	5	76.7
NN0228464	5	76.7
SSR00648	5	76.9
CSWCT17	5	76.9
SSR26904	5	76.9
NN0226186	5	76.9
NN0223789	5	77.0
NN0223809	5	77.0
NN0226623	5	77.2
NN0223634	5	77.2
NN0246814	5	77.2
NN0227194	5	77.3
NN0225426	5	77.4
NN0225876	5	77.4
NN0226156	5	77.4
NN0247406	5	77.6
NN0246437	5	77.8
NN0223864	5	77.8
NN0246426	5	77.8
SSR17975	5	77.8
NN0223659	5	77.9
NN0226257	5	77.9
NN0225344	5	77.9
SSR20486	5	77.9
NN0246586	5	77.9
NN0226429	5	78.0
NN0225867	5	78.0
NN0225673	5	78.0
NN0228260	5	78.0
NN0225717	5	78.0
NN0247058	5	78.1
NN0223685	5	78.1
NN0223699	5	78.1
NN0223091	5	78.1
NN0226394	5	78.2

[0250]

NN0225216	5	78.2
NN0247709	5	78.3
NN0247443	5	78.3
NN0224090	5	78.3
NN0223081	5	78.3
SSR06303	5	78.6
NN0225646	5	78.6
NN0225626	5	78.6
NN0229147	5	78.6
NN0229106	5	78.6
NN0229020	5	78.6
NN0228957	5	78.6
NN0247140	5	78.6
NN0227071	5	78.7
NN0246376	5	78.7
NN0224281	5	78.7
NN0226051	5	78.7
NN0226076	5	78.7
NN0223859	5	79.1
NN0247574	5	79.1
SSR13237	5	79.3
NN0226937	5	79.3
NN0226940	5	79.3
NN0247180	5	79.4
NN0247563	5	79.5
NN0247704	5	79.5
NN0247447	5	79.5
NN0247630	5	79.5
NN0224507	5	80.0
NN0247388	5	80.1
NN0224321	5	80.1
NN0225878	5	80.1
NN0224365	5	80.1
NN0225310	5	80.1
NN0227929	5	80.3
NN0224031	5	80.6
NN0228710	5	80.7
NN0224991	5	80.7
NN0226870	5	80.7
NN0228616	5	80.7
NN0226516	5	80.8
NN0226453	5	81.0
NN0226540	5	81.4
NN0227287	5	81.5
NN0227228	5	81.5
SSR03514	5	81.5
SSR21219	5	81.5
NN0228055	5	81.5
NN0246331	5	81.8
NN0227097	5	81.8
NN0246889	5	81.8
NN0224713	5	81.8

[0251]

NN0228255	5	81.8
NN0224443	5	81.8
NN0228289	5	81.8
NN0225431	5	81.9
NN0227769	5	82.0
NN0226910	5	82.0
NN0227655	5	82.0
SSR02895	5	82.1
SSR16143	5	82.1
NN0226391	5	82.1
SSR19343	5	82.1
NN0247172	5	82.6
NN0228132	5	82.6
NN0226532	5	82.6
NN0228148	5	82.7
SSR03758	5	82.7
NN0226082	5	82.7

[0252]

[0253]

실시예 10: QIR 맵핑 집단의 개발

[0254]

노균병 감수성 모식물체 05VA8409 (흰가루병 및 박과 황색 왜화병 바이러스 (CYSDV)에 저항성인 식물주) 및 PI-197088로부터 유래된 노균병 저항성 모식물체 간의 최초 교배에 의해 생성된, "QIR"로 불리는 재조합 동계교배

식물주 (RIL) 맵핑 집단을 사용하여 오이 노균병 (CDM) 저항성의 유전학을 조사하였다. 상기 집단 내의 40개의 식물주의 표현형을 프랑스 생 땅디올에서 F₄ 및 F₅ 세대에서 결정하였다. 상기 데이터를 사용한 선행 QTL-맵핑 분석은, 상기 집단에서 "IV"로서 규정된 연관군 상의 CDM 저항성에 대한 주요 QTL을 확인하였는데, 이는 나중에 염색체 5에 상응하는 것으로 밝혀졌다. CAPS 마커와의 정밀한-맵핑은 염색체 5 상의 상기 영역 내에서 상기 집단으로부터 생성된 유전자 지도 상의 35.8 cM 및 42.7 cM에서 2개의 연관된 QTL을 시사하였다.

[0255] PI-197088 노균병 저항성 모식물체를 공유하는 API 및 VJ 맵핑 집단 (예를 들어, 실시예 7-8 참조)을 사용하여 CDM에 대해 확인된 염색체 2, 4, 및 5 상의 3개의 QTL을 기초로 하여, QIR 집단에서 이들 3가지 QTL을 확증하기 위해 상기 3개의 염색체에 걸쳐 거의 균일하게 이격된 60개의 마커를 사용하여 상기 교배의 F₆ 세대의 유전자형을 결정하였다. 각각의 F₄ 및 F₅ 세대 시험에 대해, 각각의 F_n 패밀리의 10개의 성숙 식물을 식재하고, 3개의 반복 시험의 무작위 블록 설계에서 노균병 (슈도페로노스포라 쿠벤시스)의 천연 감염에 대한 저항성에 대해 시험하였다. F₄ 시험에 대해, 3개의 반복 시험 각각에 대한 총 질병 점수를 각각의 F₄ 패밀리에게 부여하였다. F₅ 시험에 대해, 3개의 반복 시험 각각에 대한 질병 점수를 각각의 식물에게 부여하였다. 질병 점수 범위는 2 (감수성) 내지 8 (저항성)이었다. 성별 결정은 F₄ 패밀리에서 분리되는 것으로 관찰되었다. QIR 맵핑 집단의 분석을 위해, F₄ 및 F₅ 시험으로부터의 원 표현형 데이터를 조정하여 반복 시험 효과 (및 F₄에서의 성별 결정)를 고려하였다. 총 40 패밀리는 F₄ 또는 F₅ 시험 중 적어도 하나에서 비-상실 표현형 값을 가졌다.

[0256] 38개의 특유한 F₆ 식물주에 상응하는 301개의 F₆ 샘플에 대해 총 60개의 SNP의 유전자형을 결정하였다. 각각의 RIL의 7 또는 8개의 식물의 유전자형을 결정하고, 표현형 및 유전자형 데이터 둘 모두를 본 분석에 사용하였다. 또한, 감수성 모식물체의 8개의 샘플도 유전자형을 결정하였다. 컨센서스 유전자형은 다음 기준을 기초로 하여 추정하였다: 각각의 좌위에 대해, 유전자형이 모든 반복 시험 샘플 (동일한 RIL의 식물)에 걸쳐 일치하지 않을 경우, 50% 초과 샘플에서 발생하는 유전자형을 컨센서스로 간주하였고; 그렇지 않으면 해당 좌위에 "상실" 유전자형이 지정되었다. 60개의 시험된 마커 중에서, 28개는 F₆ 집단에서 단형 (monomorphic) (비분리)이어서, 추가의 분석에서 배제되었다. 표 20은 사용된 마커의 요약을 제공한다.

표 20

마커 요약: 32개의 유용한 마커의 유전자형이 38개의 F₆ RIL에 걸쳐 결정되고, 사용되었다.

염색체	유전자형 결정된 마커의 총 #	분리 좌위의 #	평균 마커간 간격 (cM)	최대 마커간 간격 (cM)
2	12	5	4.5	7.7
4	25	16	3.7	8.7
5	23	11	5.0	19.7
총	60	32	4.3	19.7

[0257]

[0258] 크루스칼-월리스 (Kruskal-Wallis) 시험 (Kruskal and Wallis, J. Amer. Statistical Assoc. 47:583-621, 1952) 및 할리-노트 (Haley-Knott) 회귀 (Haley & Knott, Heredity 69:315-324, 1992)를 기초로 한 비-지표 (parametric) 접근법을 사용하여, 1 cM 간격마다 QTL의 존재에 대해 시험하였다. RIL 사이의 동일한 표현형 값에는 평균 등급을 부여하였다. 조건부 유전자형 확률은 히든 마르코프 (Hidden Markov) 알고리즘 및 코삼비 (Kosambi) 지도 함수를 사용하여 관찰된 다중점 마커 데이터를 기초로 하여 추정하였다. 유의성은 $\alpha=0.05$ 에서 1,000개 순열 내의 순열 시험으로부터 결정하였다. 모든 QTL-맵핑 분석은 R/QTL을 사용하여 수행하였다 (Broman et al., Bioinformatics 19:889-890, 2003).

[0259] 실시예 11: QIR 집단에 대한 QTL 분석

[0260] 각각 F₄ 및 F₅ QIR 집단으로부터 수집된 CDM 저항성에 대해 2개의 상이한 QTL이 Chr5:55.5cM 및 Chr4:70cM에서 확인되었다 (도 6 & 표 21). QIR 집단에서 F₄ 또는 F₅ 데이터세트의 경우 Chr2에서 노균병 저항성에 대한 유한 연관이 검출되지 않았다. 염색체 4 및 5 상의 두 QTL 모두에 대해, 저항성 모식물체에 상응하는 대립유전자에 의해 저항성이 부여되었고: 각각의 저항성 대립유전자는 질병 점수를 약 0.7만큼 감소시키는 것으로 추정되었고, 이것은 QTL당 1.4 질병 단위의 효과를 시사하였다 (표 21 & 도 7).

표 21

F₄ 및 F₅ QIR 집단으로부터의 표현형을 사용하여 확인된 오이 노균병 저항성에 대한 QTL.

세대	F ₄	F ₅
염색체	5	4
위치 (cM)	55.5	69.8
LOD	3.65	2.58
P-값 (1,000개 순열)	0.000	0.026
설명된 변이 %	36.80	25.53
상가적 효과	-0.76	-0.70
우성 효과	-1.25	1.09
최근접 마커	NN0226631	NN0246425
최근접 마커까지의 거리	0.0	2.7
집단 평균	3.34	3.88
공여자 대립유전자 평균	4.02	4.38
감수성 대립유전자 평균	2.49	2.96
1-LOD 간격 (cM)	45.5-62.5	56.8-82.0
1-LOD 플랭킹 마커	NN0227981-NN0247786	NN0247342-NN0224495
2-LOD 간격 (cM)	41.5-77.5	31.8-82.0
2-LOD 플랭킹 마커	NN0227981-NN0227071	NN0225088-NN0224495
3-LOD 간격 (cM)	28.5-78.3	25.8-82.0
3-LOD 플랭킹 마커	NN0224856-NN0227071	NN0228579-NN0224495

[0261]

[0262]

염색체 4 및 5 상의 상기 2개의 QTL이 API, VJ, 및 QIR 집단에서 일관되게 확인되었기 때문에, 상기 2개의 QTL은 노균병-저항성의 유전적 제어에서 상가적 또는 상위적으로 작용하는 것으로 보인다. 다음의 상위성 모델이 시험되었다: 노균병 저항성 ~ Q1 + Q2 + Q1 x Q2 (여기서 Q1은 Chr4:69.8cM QTL에 반응하고 Q2는 Chr5:55.5cM QTL에 반응한다). 전체 모델이 F₄ 및 F₅ 데이터 모두에 대해 유의한 것으로 밝혀졌지만 (F-통계의 P-값은 각각 0.016 및 0.015임), 하위-모델의 조사는 모델의 단지 하나의 측면이 각각의 경우에 유의함을 보여주었고 (P<0.05): Q2만이 F₄ 데이터세트에 대해 유의하였고, Q1만이 F₅ 데이터세트에 대해 유의하였다.

[0263]

API 및 VJ 맵핑 집단을 사용하여 이전에 확인된 3개의 QTL (Chr2:21.8-73.8cM, Chr4:13.8-87.6cM, Chr5:22.6-81.0cM) 중에서, 2개 (Chr4 상의 하나 및 Chr5 상의 하나)는 현재의 QIR 집단에서도 확인되었다. 2개의 QTL 영역은 비교적 큰 것으로 나타난다. 즉, 1-LOD 간격에서도, 2개의 QTL은 약 20cM 내에 위치하는 것으로 예측된다. 상기 2개의 QTL 사이에서 유의한 상위성 상호작용은 확인되지 않았고, 이것은 상기 2개의 QTL이 노균병 저항성에 대한 상가적 효과를 가질 수 있음을 시사한다 (도 8).

[0264]

실시예 12: 염색체 2, 4, 및 5 상의 노균병 저항성에 대한 QTL의 정밀한 맵핑

[0265]

오이 노균병에 대한 저항성을 부여하는 염색체 2, 4, 및 5의 QTL의 추가의 정밀한 맵핑을 상기 기재된 QTL 분석 (예를 들어 표 19)과 함께 수행하였다. 염색체 2 상의 마커 (지도 위치는 괄호 내에 표시함), 즉 NN0246378 (14.554); NN0227646 (19.999); NN0223782 (22.448); NN0226279 (26.487); NN0246831 (28.802); NN0226670 (30.115); NN0224124 (32.406); NN0247070 (34.669); NN0227137 (36.613); NN0247472 (38.441); NN0227700 (55.622); 및 NN0247695 (66.466)를 사용한 정밀한 맵핑은 염색체 2 상의 CDM QTL이 QIR 맵핑 집단으로부터의 결과를 기초로 할 때 14.5-38.4 cM을 포함하는 지도 위치 14.5-66.4 cM 사이에서 연장됨을 나타내었다.

[0266]

염색체 4 상의 마커 (지도 위치는 괄호 내에 표시함), 즉 NN0225012 (20.649); NN0228579 (25.816); NN0226451 (27.944); NN0225088 (30.428); NN0247551 (35.460); NN0247100 (37.638); NN0224390 (44.531); NN0225551 (46.644); NN0228715 (49.546); NN0227475 (50.320); NN0227873 (50.477); NN0228883 (50.812); NN0223084 (53.747); NN0226586 (53.869); NN0247342 (54.495); NN0224702 (62.385); NN0224265 (65.543); NN0225482 (66.478); NN0225553 (66.478); NN0223940 (67.148); NN0246425 (67.148); NN0224041 (75.834); NN0224495 (81.973); NN0227587 (87.395); 및 NN0246631 (98.405)을 사용한 정밀한 맵핑은 염색체 4 상의 CDM QTL이 QIR 맵핑 집단으로부터의 결과를 기초로 할 때 1-LOD 간격으로 지도 위치 56.8-82.0 cM 사이에서 또는 2-LOD 간격으로 31.8-82.0 cM 사이에서, 또는 3-LOD 간격으로 25.8-82.0 cM 사이에서 연장됨을 나타내었다.

[0267]

염색체 5 상의 마커 (지도 위치는 괄호 내에 표시함), 즉 NN5096749 (25.200); NN0228457 (25.235); NN0224856 (28.544); NN0246356 (30.032); NN0225532 (30.761); NN0228982 (33.131); NN0227981 (35.718); NN0223689

(41.014); NN0225790 (42.626); NN0246677 (44.758); NN0247731 (44.780); NN0226326 (48.512); NN5096750 (51.200); NN0246672 (51.326); NN0224442 (53.297); NN0226631 (55.452); NN0224600 (55.452); NN0246411 (55.649); NN0247786 (71.424); NN0223160 (74.955); NN0223809 (76.617); NN0227071 (78.303); 및 NN0228148 (82.273)을 사용한 정밀한 맵핑은 염색체 5 상의 CDM QTL이 QIR 맵핑 집단으로부터의 결과를 기초로 할 때 1-LOD 간격으로 지도 위치 45.5-62.5 cM 사이에서 또는 2-LOD 간격으로 41.5-77.5 cM 사이에서, 또는 3-LOD 간격으로 28.5-78.3 cM 사이에서 연장됨을 나타내었다.

[0268] 따라서, 염색체 2의 QTL은 지도 위치 14.5-66.4 cM 사이에서, 또는 14.5-38.4 cM 사이에서 연장될 수 있다. 마찬가지로, 염색체 4의 QTL은 13.8-87.6 cM 사이에서, 또는 25.8-82.0 cM 사이에서, 또는 31.8-75.8 cM 사이에서 연장될 수 있다. 염색체 5의 QTL은 유사하게 22.6-81.0 cM 사이에서, 또는 25.2-78.3 cM 사이에서, 또는 28.5-75.0 cM 사이에서 연장될 수 있다.

[0269] **실시예 13: 노균병 저항성에 대한 QTL 간격의 개선 및 QTL에 걸친 유전자 재조합 사건을 사용한 역교배 식물주의 개발**

[0270] DM 저항성과 고도로 연관된 이전에 확인된 QTL 간격 (예를 들어 염색체 2, 4, 및/또는 5 상에서)으로부터의 하위-영역(들)을 확인하기 위해, 2개의 상이한 생식질 클래스로부터 발달한 61개의 DM 저항성 식물주에서 PI197088로부터의 유전자이입 영역을 확인하였다. 두 생식질 클래스 모두에 대해, 저항성 식물주는 3개의 QTL 영역 내에 유전자이입된 영역을 제시하였고, 이것은 육종 물질에서 DM에 대한 저항성을 부여하는 확인된 QTL의 유용성을 지지한다. 각각의 QTL 간격에 대해, PI197088에서 발견된 비교적 고빈도 마커 대립유전자를 갖는 영역이 관찰되었고; 이들 유전자이입된 영역은 DM 저항성을 부여하는 QTL, 또는 이들 QTL과 고도로 연관된 마커를 함유하는 것으로 보인다. DM 저항성과 고도로 연관된 영역은 다음을 포함하는 것으로 밝혀졌다: QTL2: 14.554-38.4 cM; QTL4:44.531-66.478 cM; 및 QTL5: 25.235-42.626 및 53.297-71.424 cM.

[0271] DM에 대한 저항성을 갖는 식물, 본 경우에 공여자 모식물체 (DP)로 언급되는 PI197088의 자손체 식물을 재발성 모식물체 ("RP")로 언급되는 몇몇 DM 감수성 최상급 동계교배 식물주로부터의 식물과 교배시켰다. 상기 교배에 의한 F₁ 세대의 식물을 각각의 RP의 식물에 역교배시켜 역교배 1 (BC₁) 세대를 형성하였다. 각각의 RP 계통에서, 40 내지 50개의 BC₁ 식물을 RP 식물에 역교배시켜 BC₂ 세대를 형성하였다. 이것은 DM QTL의 초기 확인 전에 이루어졌다.

[0272] 염색체 4의 DM 저항성 QTL ("QTL04") 및 염색체 5의 DM 저항성 QTL ("QTL05")에 대한 마커가 개발될 때, 각각의 BC₁ 식물의 나머지 조직의 유전자형을 결정하고, QTL에 대해 이형접합성인 식물을 확인하였다. DM QTL 이형접합성 BC₁ 식물로부터의 BC₂ 자손체 식물의 유전자형을 각각의 DM QTL의 먼 말단부에서의 마커를 사용하여 결정하였다. 상기 데이터를 이용하여, 다른 DM QTL에서 동형접합성 RP 대립유전자를 보이면서 DM QTL 중의 하나 내에 유전자 재조합 사건을 함유하는 BC₂ 식물을 선택하였다. 이들 식물을 온실에서 자가-수분시켜 BC₂F₂ 세대를 생성시켰다. 다음 작물 사이클에서, 각각의 재조합 BC₂ 계통으로부터의 BC₂F₂ 식물의 유전자형을 DM QTL 내의 마커를 사용하여 결정하고, DM QTL의 재조합 섹션에서 바람직한 대립유전자의 동형접합성에 대해 선택하고, 자가 수분시켜 BC₂F₃ 세대를 생성하였다. 각각의 BC₂F₃ 패밀리는 각각의 패밀리 내에서 DM에 대한 균일한 표현형을 부여하도록 하나의 DM QTL의 재조합 섹션에서 DP 대립유전자에 대해 균일하게 동형접합성이고, 다른 QTL에 대해 동형접합성 RP이었다. 이어서, QTL04 및 QTL05 (nul1 대조군) 모두에서 오로지 바람직하지 않은 (RP) 대립유전자의 존재; QTL04에서 바람직하지 않은 대립유전자, QTL05에서 바람직한 대립유전자의 존재; QTL04에서 바람직한 대립유전자, QTL05에서 바람직하지 않은 대립유전자의 존재; QTL04 및 QTL05 모두에서 바람직한 대립유전자의 존재에 대해 선택된 BC₂F₃ 식물주로 구성된 4가지 실험 대조군을 사용하여 재조합 BC₂F₃ 패밀리의 DM에 대한 표현형을 결정할 수 있었다. 이어서, 데이터는 대조군 및 BC₂F₃ 패밀리 사이의 일련의 2점 대비 (paired) 시험으로 분석될 수 있다. nul 대조군보다 유의하게 더 우수한 DM 저항성을 보이는 BC₂F₃ 재조합 패밀리의 유전자형은 DM QTL에 바람직한 대립유전자를 함유하는 영역의 위치에 대해 평가된다. 상기 유전자형을 보유한 모든 BC₂F₃ 패밀리가 우수한 DM 저항성을 보일 경우, 그 유전자 간격은 DM QTL을 함유하는 것으로 규정된다. 다수의 BC₂F₃ 패밀리를 상이하지만 중첩되는 재조합 단편과 비교하면, DM QTL을 함유하는 보다 작은 유전적 및 물리적 영역이 확인된다. DM QTL의 지도 위치의 개선에 이용된 추가의 유전자 마커를 표 22에 나열한다. 그러한 마커는 다양한 맵핑 집단, 예를 들어 특히 QIR, API, 또는 VJ와 함께 이용된다.

표 22

QTL 지도 위치를 개선하기 위한, 염색체 2, 4, 및 5 상의 QTL에 연관된 SNP 마커의 부위에 플랭킹하는 예시적인 추가의 쌍, 사티부스 계통 DNA 서열.

마커 명칭	염색체; 지도 위치	계통 DNA 서열 (서열 70-87). 다형성을 갖는 SNP 부위는 각괄호 내에 제시된다.
NN0246378	2; 14.554	AATGACTTATCTAGATGGATATGATAACTTCACCGATTGTT GGATAAAAAAGCAGGTGAC[A/G]AGTTGTGTTATTATTGGG CAGTGATGTATTGTTAGnTAACCACTGAAAATTGTTAAAAATT A
NN0224041	4; 75.834	TCTTTAAAAAGAAGCTTGAAGATGAAGAAATTGCAAAATT TCAATCATTTTCGATCCCTCC[A/T]CTCACCTGAAAAAGTGGT TAATTCTGATGATTTTAGATCATGGTCCATTGATCCCTCAAT
NN0227587	4; 87.395	ATTTTATAGATGTGAGCCTATTTATGTGCTCTTAACTTCTCT

[0273]

		TTAGTAATGGTGGAAAATG[T/C]AATTTGTTTATGAGCAATGG TATCGTGAATAAATGGTTGGATACATAATAGCTTTGCTTG
NN5096749	5; 25.200	ACTAGGTCGTGGGATGTCGTTGGGGACATGTTAAATCCAT GGCTGTCTA[G/A]AAGGAATTTCCATATCATTGAGATCTAG GTGCACAAATTCCTCGAACCTA
NN0224856	5; 28.544	GGACATTCTTCACATAAAATCAGAATTGTCGTACACAACCCA AAATTTCTCCAATTAGCTAA[T/C]AGCGTTACAGATCTTCTTT TCCGCTTCTTTCCACGATGTATGATATAGTGTGCCCTGAA
NN0223160	5; 74.955	AATGCAACAATTCTTTAGCTAAGGAGAAGAAAGAAGCAA AAGAAAGAAAACACTCCACC[T/C]CTAGCCATTGCCCATCA TCCATCTAAATTTCTTACTAAGATGCATAATATCTTCCACAT A
NN0223809	5; 76.617	GGAGATTGTTGCACGCCTGAAGAAAGCCTTCAGAATTACC ATTAAGACTTCCCAACTCTG[T/C]CTGCATATTGTCAAGAAA GCTAGAGATTTTCTCAGAAGCTACTTAATGGCAGGGCCCT C
NN0226631	5; 55.452	GTCAAAAAGGTCAAGTCCCACTCCTCAGCTTATGAATCAA AACCTGCACAGAAGGGAA[A/T]CACAACAACATTTTCAAC TTTTTCACTTAACCTTTTGGCAATCATCAGGTTAAACAGACT T
NN0227981	5; 35.718	GGATTAATTTGCAAAAACCTTAAGTCGGGGAATTAGGGCT AAAGAGGAATTAAGGTAGAA[T/G]TGATTACCCCTGAGGAT TATTGAAGGATAAATTGAGTTGTGATTGATTAGCGAAATAA CC
NN0247786	5; 71.424	TTAGGTTCCCGCTATTGCAATACCAACAAGGCATGAAGGCT TT[C/G]GCCACAATGTGAAATCATCAACAGTTACTATGAAC AATGAATTTCGCTAACAGGAAAnCGT
NN0246425	4; 67.148	GAAGTAAGTTGCCTGCTTCTCTTTTTCCTACTAGGAATTGCT ATTTCAGACAGTTATATGC[A/T]CATTTCCAATGGTGCTTTT TGTTCAATTGTTTCAATGTGGGATTGACATCTGTCTGAA
NN0224495	4; 81.973	ACGAATTTTCTAGTTGAGTCAAGTCAGGTTGGTTGGAAAGT GTTATCAGAATATGTCAGT[A/G]CTTGTCAACTCTCGCACTC TCTTTTGAGGCTATAAAGTTAGAGAAGAGTCTCTAGGAAGG
NN0225088	4; 30.428	GAGTTTCCAAAATTGAACATCTTCAATGGACAGAAAGTTT GAAGTAGCAAGACTTAAGG[T/C]TTCCACTTGGTGTTCCTTA TCTAAGTTCTCGAACAATTGCAATTGATTTCCTAAATATT
NN0227071	5; 78.303	AGGAAAAATACCTTCCAATAGAAAACATGGTAAATGCAATA AGCATCTAGTTCATCCAATT[C/G]CAAGGGTAATGGCTAGTT CAAGATGGAACATAAACTCTCAGAGTGGTGTGTGCAATCCT G
NN0223782	2; 22.448	TTCATACGCCGTTGCAGCTGAAAGTGGCAACCATTTACTTCC AGATCATTATGACAATAAA[T/C]AACCAAGGCCACCTTCAT GCATAAATGGTAAGATAATAGCAAGCTCTATACCTTCTTTT T
NN0228579	4; 25.816	ACTCATATTTACAGAAAACTTACTCTAAACCACAAGTCCTT AACAAATATATTTCTGCTT[C/G]CGGCTCTCTTCTATCATG AAATTTTGAAGCTATTACAGAAAATCC
NN0247342	4; 54.495	GTACTTGTACCAATATGAAATGTGCACATGCGCTCTTGTCC

[0274]

		TAGATAATATGCACAGTTC[A/T]CCTTAAAAGCTAAGCATA AGCCACAAATCCAAGAACCAATGTAACCAAAACAGTATGG GA
NN0247731	5; 44.780	TGAAGAAGAGCCTTTATTGCGTCATCTGGAACCTCCTTTAT CCATTTATCTTGAATTGGT[T/C]GGTCATGAACACACCTTTA CCATTTATTATTCAATGCCATGATTGTCTTACACAGGTGTG

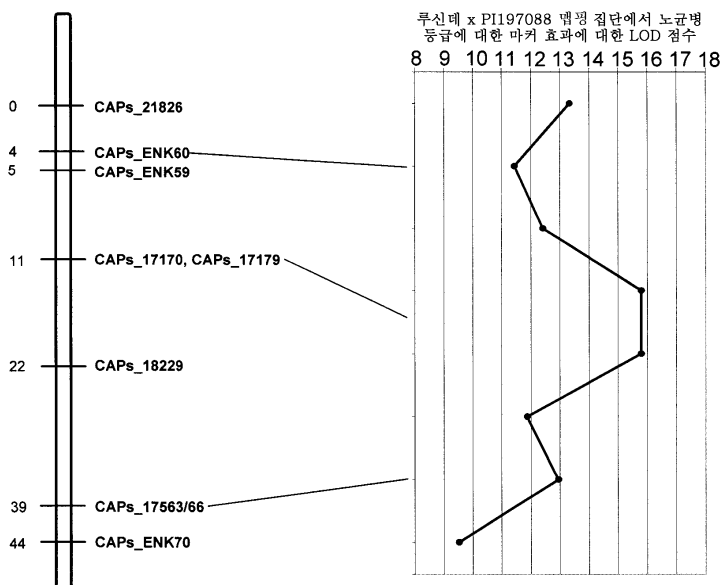
[0275]

[0276]

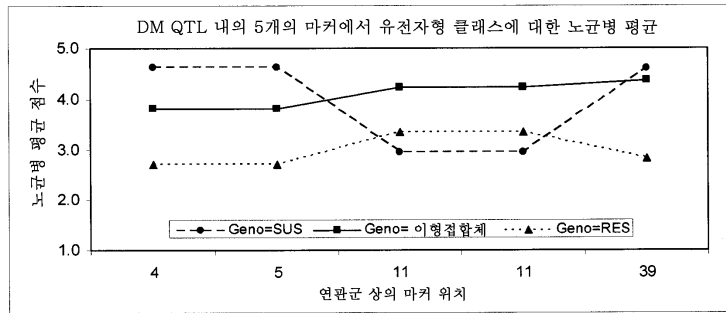
DM QTL의 초기 맵핑에는 API 및 VJ 집단으로 언급되는 2개의 F₅ 집단으로부터의 데이터가 사용되었다. API 집단 내의 패밀리에 대한 수회 시험으로부터의 평균 DM 점수를 집단 평균과의 유의한 차이에 대해 시험하였다. 집단 평균보다 유의하게 더 높거나 더 낮은 DM 점수를 갖는 패밀리를 선택하였다. 각각의 이들 패밀리로부터의 식물의 유전자형을 결정하고, DM QTL에 걸쳐 동형접합성에 대해 선택하였다. 또한, 특히 F₅ 패밀리에서의 이형접합성으로부터 상기 선택된 F₅ 식물 및 유래된 F₆ 패밀리에서의 동형접합성으로 전환된 영역을 규정하기 위해, 상기 선택된 식물의 유전자형을 전체 게놈 영역 마커에 대해 결정할 것이다. 이들 식물을 자가 수분시켜 F₆ 패밀리를 생성하였다. API 집단의 DM-감수성 모식물체의 실험 대조군, 집단의 DM-저항성 모식물체 (PI197088), 및 QTL04 및 QTL05 (눌 대조군) 모두에서 오로지 바람직하지 않은 (RP) 대립유전자의 존재; QTL04에서 바람직하지 않은 대립유전자, QTL05에서 바람직한 대립유전자의 존재; QTL04에서 바람직한 대립유전자, QTL05에서 바람직하지 않은 대립유전자의 존재; QTL04 및 QTL05 모두에서 바람직한 대립유전자의 존재에 대해 선택된 BC₂F₃ 식물주로 구성된 이전에 설명된 4개의 실험 대조군과 함께 상기 패밀리의 표현형을 결정하였다. 이 분석은 QTL 간격의 유전자 위치에 대한 개선된 분석, 및 DM 저항성에 기여하는 추가의 QTL의 검출을 허용한다. DM QTL 내의 유전자형을 F₅ 패밀리에서의 이형접합성으로부터 상기 유래된 F₆에서의 동형접합성으로 변화시킴으로써 보다 균일한 DM 표현형이 제시되고, 그에 따라 유전자형-표현형 상관관계의 분석을 강화할 수 있다.

도면

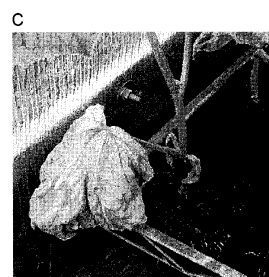
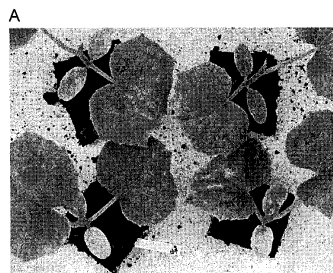
도면1



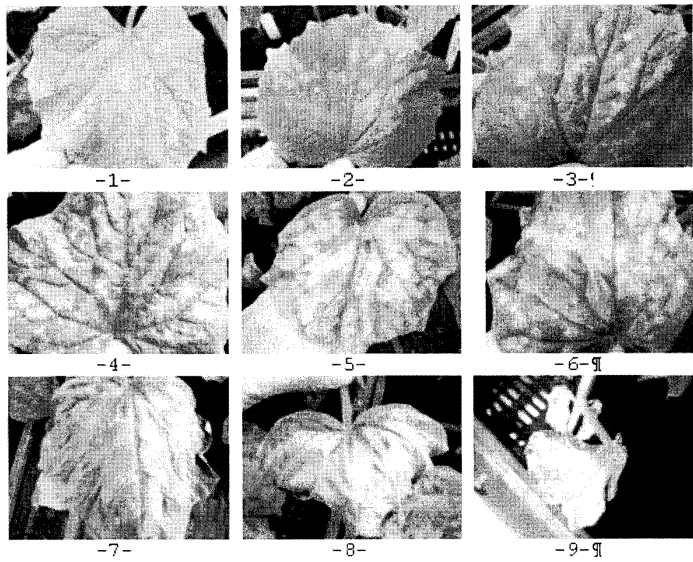
도면2



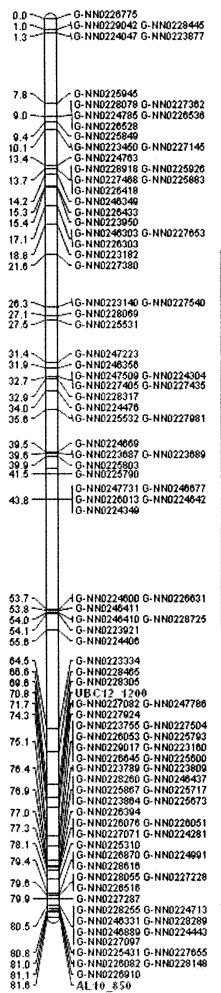
도면3



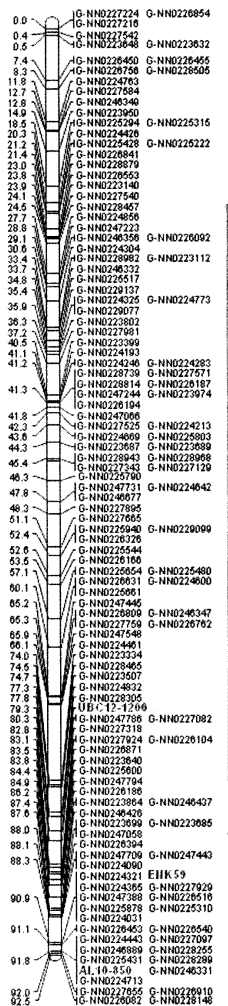
도면4



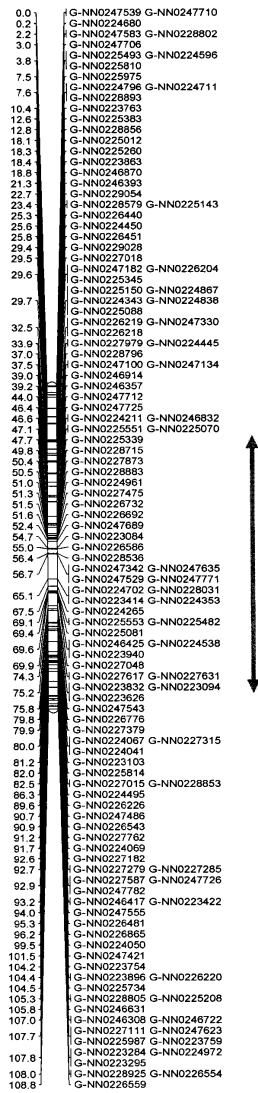
도면5a



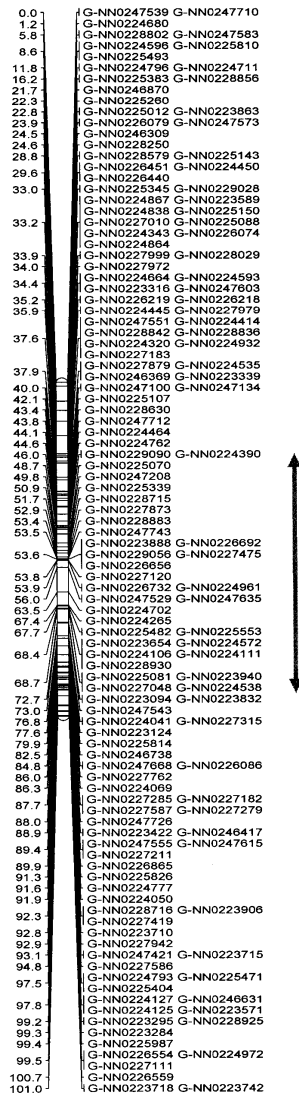
도면5b



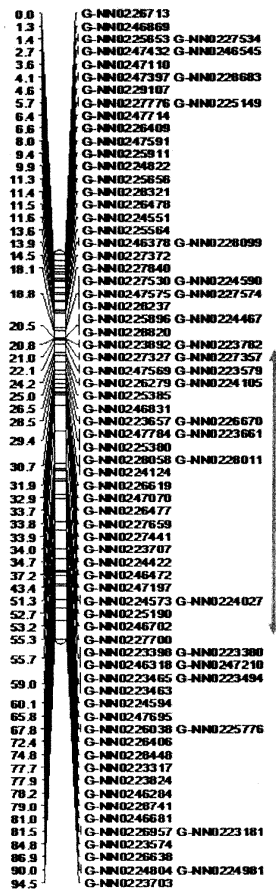
도면5c



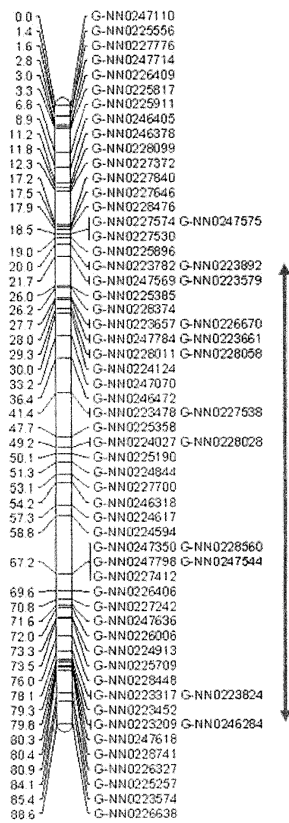
도면5d



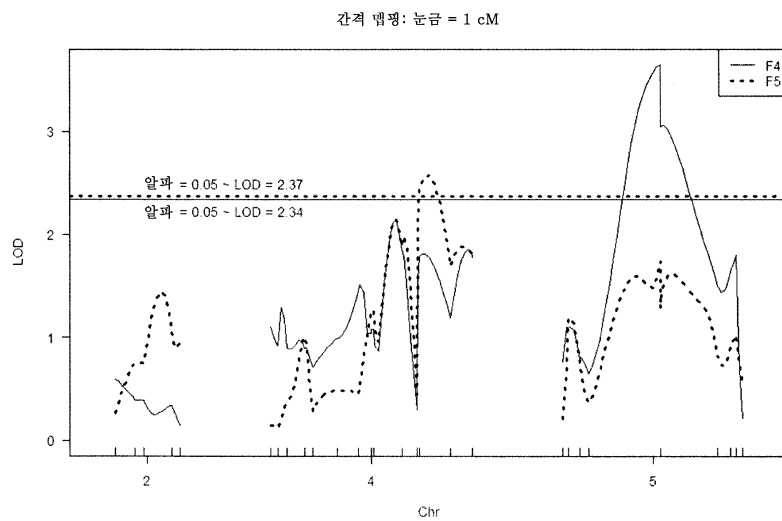
도면5e



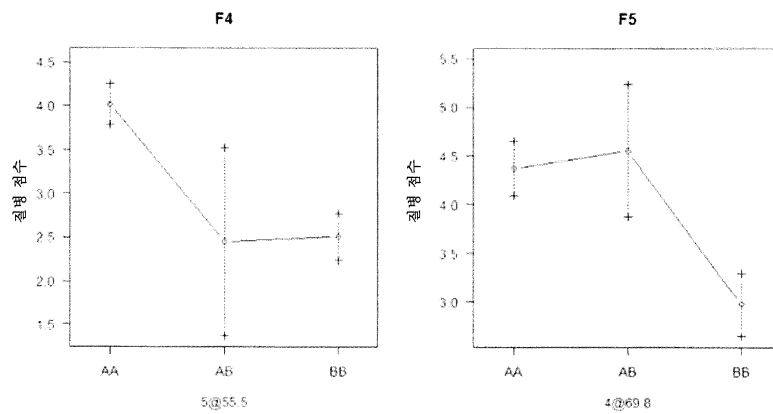
도면5f



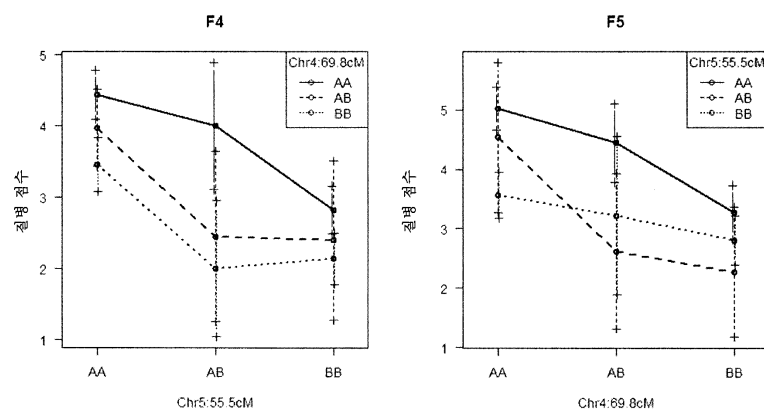
도면6



도면7



도면8



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Chan, Eva

Schetty, Nischit

King, Joseph

Caldwell, David

<120> METHODS AND COMPOSITIONS FOR IDENTIFYING DOWNY MILDEW RESISTANT

CUCUMBER PLANTS

<130> SEMS:108WO

<140> Unknown

<141> 2010-10-22

<150> 61/254,141

<151> 2009-10-22

<160> 87

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic primer

<400> 1

gaatagatag gctacacttt tccctcttg 29

<210> 2

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic primer

<400> 2

gtataaaact tgagtgaatt taatgcatga a 31

<210> 3

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic primer

<400> 3

tgtttcataa ctacagcttc atgttaaata ttact 35

<210> 4

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic primer

<400> 4

tagtttcttt cttgctggac gaacc 25

<210> 5

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic primer
 <400> 5
 tatgggctat gtgaaactct t 21
 <210> 6
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic primer
 <400> 6
 agcgtgacaa ctacaaaaca t 21
 <210> 7
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic primer
 <400> 7
 gaaataaatg gatgaagcga gga 23
 <210> 8
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic primer
 <400> 8
 gttcgtgat cagtgtgata tttcaat 27
 <210> 9
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic primer
 <400> 9
 atcggctcttt gccacctttt g 21
 <210> 10
 <211> 28
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic primer

<400> 10

aggagggaca gagagaattt gatataat 28

<210> 11

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic primer

<400> 11

tccgttttag gtgattgtca aatacat 27

<210> 12

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic primer

<400> 12

tgtttgaag ggtttcttgg g 21

<210> 13

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic primer

<400> 13

tgccatgtcg ccaacagt 18

<210> 14

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic primer

<400> 14

tcaagccata gtctaacca tgc 23

<210> 15

<211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic primer
 <400> 15
 cgctatatca tggatggcta gaaat 25
 <210> 16
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic primer
 <400> 16
 aaagttgata gtgcatgagt tggtaaaata 30

 <210> 17
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic primer
 <400> 17
 tccgcttatg ggTTTTgtg ag 22
 <210> 18
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic primer
 <400> 18
 tatgggctat gtgaaactct t 21
 <210> 19
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic primer
 <400> 19

agcgtgacaa ctacaaaaca t 21

<210> 20

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> y is c or t

<400> 20

ttcatacgcc gttgcagctg aaagtggcaa ccattacttc cagatcatta tgacaataaa 60

yaaccaaggc caccttcatg cataaatggt aagataatag caagctctat accttctttt 120

t 121

<210> 21

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> y is c or t

<400> 21

tcttgatcaa tccaactggg ttggaactca aattcaagaa atgggggttta atcacaacca 60

ygttcaatct caattttcag attccgccat cccccccact ccctatactc aacctcctga 120

c 121

<210> 22

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> m is a or c

<400> 22

ggtttagatg aaaagaagta tgcattcatg cttttgcaca aaggcattcc tggctttcaa 60

mtagctgtat ctcttgcagg gatataaatg gatgcaacac tcttttcagt gaaagaaatc 120

c 121

<210> 23

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> y is c or t

<400> 23

ggatcattat ttatccaag tattagcaag ctctaataa aacacttcct aaagaacata 60

ycgatccaaa ttatatgcta agagaattac ccaacatttg agcaagttta ctgactacag 120

c 121

<210> 24

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> r is a or g

<400> 24

tagaaaacaa gaatggttct caaagaacct accgaccgaa ttggttgagg atgagatgac 60

raatagaac attaataata tggtggagga ggaggcgatc gatgaaccgt cgcaaagcat 120

t 121

<210> 25

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> r is a or g

<400> 25

ccacgaatgg aatcaatgaa ttcacgagca acctataata agagagtgga aaacaaaact 60

rctccttcac catctaagaa aacaatgtat aaaaatcaga gaaggaaaga taaaagatac 120

t 121

<210> 26

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> r is a or g

<400> 26

gaagaagagt gcaacaagta agagtctggc tgggggagtt gaagttcatt catggattag 60

rttaacatac gaactttgga ggcgtgcaaa agacaatccc cataacttga ttacgggctt 120

c 121

<210> 27

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> y is c or t

<400> 27

aaaatatatg atcctacaac taaataagag tgcacatgaa gataccttat atataggaga 60

yaatgatgtc gtatgtcctg cttgatgatt tcgaagaacc agatgactga agaaggaata 120

a 121

<210> 28

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> y is c or t

<400> 28

ggagttaatc gaaggaagaa aatcaactcg tcttaacagc atcacaataa tcaaattctt 60

yaggtatacc tttcttctcc ttgtcactgg atctcatcagg atctctcatcg gcgattttgc 120

g 121

<210> 29

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> y is c or t

<400> 29

ctctgaagaa ttaccgaagg gggtcggaat tttctctata gcctgcaatg agaggaataa 60

ygaggaatga aaatgtttggc tctgtagcac atgaatgaaa tgcggatatt ctgccaagg 120

c 121

<210> 30

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> y is c or t

<400> 30

agaacaaccc ccaacgtccc aaaatcacta catctccaac cttttcttct cctcatcatt 60

yagttttagt ctctgttttg tggaactctc aaatgaaatt gcttgaatac tcttgataaa 120

a 121

<210> 31

<211> 116

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> y is c or t

<400> 31

accaaaaatg aaataaaatc aggctccacc ttcaccttgc agtaatatga tggcagtagc 60

ytgcattgta aaccatgtta atagaagaaa agaactgtga gaaaatacta gaattc 116

<210> 32

<211> 89

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> s is c or g

<400> 32

cggatgagga tttcagggtg tttttctaaa caaatgtttg cccittaaac atgcgtttgc 60

sgattctggt ttatttgttt tcggttgat 89

<210> 33

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> r is a or g

<400> 33

actatcctaa tactacggaa ttggtgtgga gaacagaaca gttatttggg ttgttcgaaa 60

rtctcgacaa ctttcgatcg atcactcttg ttagggggta tcccaactac atcataagca 120

a 121

<210> 34

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> r is a or g

<400> 34

actatcctaa tactacggaa ttgggtgga gaacagaaca gttatttggg ttgttcgaaa 60
rtctcgaaa ctttcgatcg atcactcttg ttagggggta tccaactac atcataagca 120
a 121

<210> 35
<211> 121
<212> DNA
<213> Cucumis sativus
<220><221> misc_feature
<222> (61)..(61)
<223> y is c or t
<400> 35

tgcttcttga tcttgctaata gtaaagagat atcacttaca tgaaaggctt tccgagtcac 60
ygtcaatttc tgcactggga ggcttttggg cattgctctt gaataccaca tcccatatt 120

t 121

<210> 36
<211> 121
<212> DNA
<213> Cucumis sativus
<220><221> misc_feature
<222> (61)..(61)
<223> y is c or t
<400> 36

gagtttccaa aattgaacat cttcaatgga cagaaagttt tgaagtagca agacttaagg 60
yttccacttg gtgttcctta tctaagttct cgaacaattt gcatttgatt tcttaaatat 120
t 121

<210> 37
<211> 121
<212> DNA
<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature
<222> (61)..(61)
<223> w is a or t
<400> 37

taatagttac atgatgcttt attgctacta tatatgttca gaaatattat ccagatgcga 60
 watattttca gacactgctg tgaatgttat ttggactaac gaaacttggt atttgtgct 120
 g 121

<210> 38
 <211> 121
 <212> DNA
 <213> Cucumis sativus
 <220><221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> n is a, t, c, or g
 <220><221> misc_feature
 <222> (61)..(61)
 <223> r is a or g

<400> 38

gtttacatga aantatgcac acacccaaag atatgttgat taagatgata agttccaag 60
 ratagaagaa ttatgttgtt attgcttctt tgatgtccag gaactaatga gatttatctg 120
 g 121

<210> 39
 <211> 121
 <212> DNA
 <213> Cucumis sativus
 <220><221> misc_feature
 <222> (61)..(61)
 <223> y is c or t
 <220><221> misc_feature
 <222> (101)..(101)
 <223> n is a, t, c, or g

<400> 39

tatagccgag caaccgagtc cttagatttg gtttaagagc atctacgaat agatggtcga 60

ytgtatgaat gatgagcaga aacgctcttg aaacggcttc ntcacatttg aactccatgc 120
 a 121

<210> 40
 <211> 103

<212> DNA
 <213> Cucumis sativus
 <220><221> misc_feature
 <222> (61)..(61)
 <223> r is a or g
 <220><221> misc_feature
 <222> (94)..(103)
 <223> n is a, c, g, or t
 <400> 40
 tgatttatct catggagaat accaatgtgc aaaagaaacc aaaggcggtc ttcttcatct 60
 rtgtttagct tcgatattgt gtgtagcact gcannnnnnn nnn 103

<210> 41
 <211> 121
 <212> DNA
 <213> Cucumis sativus
 <220><221> misc_feature
 <222> (61)..(61)
 <223> y is c or t
 <400> 41
 agaaattttt taagacaata ctgatatcc ttttcacaat tcagttcatt ctcctataa 60
 ytgtgattcc agcaacgatt aggaatgatt tctcaattcc caccttggtg cacatttcaa 120
 g 121

<210> 42
 <211> 113
 <212> DNA
 <213> Cucumis sativus
 <220><221> misc_feature
 <222> (53)..(53)
 <223> w is a or t
 <400> 42

ctttatttta ttttcaggtt gctcttaaatt ttgagcacag aaatagtaaa ggwtgcaatt 60
 atggtcctcc atacgaatgg caagtttaca agtgagtaac tttttgggtt aca 113
 <210> 43

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> w i s a o r t

<400> 43

gtacttgtac caatatgaaa tgtgcacatg cgctcttgtc ctagataata tgcacagttc 60

wccttaaaag ctaagcataa gccacaaatc caagaaccaa tgtaaccaa acagtatggg 120

a 121

<210> 44

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> w i s a o r t

<400> 44

ctgttgecta tgcaaagcat ttatacagct tcattctgcc attttaacga atgttcactg 60

wagtacatga gatggcttcc aaaactgtct tgtaagggtg gcctctcacc tgcacatctgc 120

t 121

<210> 45

<211> 116

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> m i s a o r c

<400> 45

tctttttata cttttctgat cttgtaaagt ttaaggcttt caactggtgt agtgtagtca 60

mcagaagtct ttttataatt gttacacttt aatttgatag gaaagtgttt ctttaa 116

<210> 46

<211> 121

<212> DNA
 <213> Cucumis sativus
 <220><221> misc_feature
 <222> (61)..(61)
 <223> s i s c o r g
 <400> 46
 gctagtatat ctatatatct ttttgagagc tttatgataa ttatcaaatg aagattctag 60
 stgtgtgatac aagagaagat tcttagccta cctcttagct cttttaaaaa ttgtggtagt 120
 t 121

<210> 47
 <211> 121
 <212> DNA
 <213> Cucumis sativus
 <220><221> misc_feature
 <222> (4)..(4)
 <223> n i s a , c , t , o r g
 <220><221> misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> n i s a , c , t , o r g
 <220><221> misc_feature
 <222> (24)..(24)
 <223> n i s a , c , t , o r g
 <220><221> misc_feature
 <222> (61)..(61)
 <223> k i s g o r t
 <400> 47
 taantttgtt ttcacatttn ttncaaata atatatatct tacagtttag gaggttctt 60
 kcaccattac atataaaaca tatggaacaa acattacctc taaataacca atagactttt 120
 a 121

<210> 48
 <211> 121
 <212> DNA
 <213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> w is a or t

<400> 48

tcctttaaag aagcttgaaa gatgaagaaa ttgcaaaatt tcaatcattt cgatccctcc 60

wctcacctga aaaagtgggt aattctgatg attttagatc atgggccatt gatccctcaa 120

t 121

<210> 49

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> k is g or t

<400> 49

gtccatacta ccataattga taatactaag taccctgaac ctttgagatt tgaatctttc 60

kacccacag gttgttaaac acaaatacga gtaacaaaga taagatttga actcagcctt 120

t 121

<210> 50

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> r is a or g

<400> 50

ttggttcctg atccagaaga aaaatggttg atttccttat gattcttttc agtaagggtg 60

racaatcttg ctccagggtc ttgcgcataa aacacccccc tccaaggaag agaaacccca 120

a 121

<210> 51

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> y is c or t

<400> 51

attttagat gtgagcctat ttatgtgctc ttaacttctc ttttagtaat ggtggaaatg 60

yaatttgttt atgagcaatg gtatcgtgaa taaatggttg gatacataat agctttgctt 120

g 121

<210> 52

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> r is a or g

<400> 52

gttgggcttt tttgttgtat tatttctttt tgcgtatta tgtatctaaa ggcagatgaa 60

racctggatc atattctttg gcaatgtgat ttgcgttgg tgtttgggat tcctttttcc 120

a 121

<210> 53

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (20)..(20)

<223> n is a, t, c, or g

<

220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> r is a or g

<400> 53

ttaaacaatt gacccaaaan ttaaagttga tgggtaaagg taaaactaac attatatcac 60

rcaacattcc ctcatattga gacttgaaat atgtagaaaa gccattagt gaaaatgaat 120

a 121

<210> 54

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (55)..(55)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> r is a or g

<400> 54

tattttggtg ctaaccgaat agtttgagag ggagaaatag gaaacgatga caacnccatg 60

rattggggga agtgttcgac atttgaaaag gagaataaat caattaaaat tatgcattca 120

a 121

<210> 55

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> w is a or t

<400> 55

acacagtatt gataatttcc aaatcaacac ttggaatatt tttgttaaat atgcacgaca 60

watttgggtc gttattggtc catgatggta atctatactt catatgaaat tcttatctct 120

a 121

<210> 56

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> y is c or t

<400> 56

tatatgttgc taatgtgcta tttttaaga aaaaataaag gccccatttg gtcatggttt 60

yctctcaatt gticaattgt actttccaca ttatttgaat aagcaatcca acttttacct 120
 a 121
 <210> 57
 <211> 121
 <212> DNA
 <213> Cucumis sativus

 <220><221> misc_feature
 <222> (61)..(61)
 <223> y is c or t
 <400> 57
 tgaagaagag cctttattgc gtcactctgga acctccttta tccattttatc ttgaattggt 60
 yggatcatgaa cacaccttta ccatttatta ttcaatgccca tgattgtctt acacaggtgt 120
 g 121
 <210> 58
 <211> 121
 <212> DNA
 <213> Cucumis sativus
 <220><221> misc_feature
 <222> (61)..(61)
 <223> s is c or g
 <400> 58
 agtcgagttt ttagccactc ataaccacgt tgaatgcttt taaccttgta gtcactaaca 60

 saaacacagt ggaatggtag ttgaagtagg gtcattttgg ctaattcatt gcatgttggt 120
 a 121
 <210> 59
 <211> 121
 <212> DNA
 <213> Cucumis sativus
 <220><221> misc_feature
 <222> (61)..(61)
 <223> y is c or t
 <400> 59
 tgtccaaaag aaatatatgc tcaaactgtg cctcaatcac cgtcttctct ccaattttcc 60

yatatcattc tcgattatta ctttcctcta ttccatttag tttctaataa ttaataacgg 120
c 121

<210> 60
<211> 121
<212> DNA
<213> Cucumis sativus
<220><221> misc_feature
<222> (61)..(61)
<223> r is a or g
<220><221> misc_feature
<222> (104)..(104)
<223> n is a, c, g, or t
<400> 60
ccgaggcgac ctccggcttg cccgttaca gttgggagtt gggccttggg ctctcgacgt 60
rggccgagag tccattgctc ctaaagattg gtgggcaccg cgtnaggctg gttcacagag 120
c 121
<210> 61
<211> 121
<212> DNA
<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature
<222> (61)..(61)
<223> s is c or g
<400> 61
cttctagcca aaataattcc atttttgttt cacaaaatga acctgttgga gggaagacca 60
stgcgctacc catcccaaat tcagattctg gaaatatggc caaagatcat tcattgaggt 120
c 121
<210> 62
<211> 121
<212> DNA
<213> Cucumis sativus
<220><221> misc_feature
<222> (29)..(29)

<223> n is a, c, g, or t

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> y is c or t

<220><221> misc_feature

<222> (110)..(113)

<223> n is a, c, t, or g

<220><221> misc_feature

<222> (121)..(121)

<223> n is a, c, t, or g

<400> 62

atggagctta gagaaaacga cctagaaant attatcctta ttcattgtcga acgggctgtc 60

yggttaagatt agttgaggtg cgcataatac ctggacactc acaaatatgn nnnaaaaaaa 120

n 121

<210> 63

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> s is c or g

<400> 63

atatggaata ttigacaact aattagttac ttctaaaact gcaatagcag tcacgttagt 60

stccccagg gagagaagaa aatactagaa ttgtgagcc actgttaata gattcaaaat 120

a 121

<210> 64

<211> 104

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (44)..(44)

<223> s is c or g

<220><221> misc_feature

<222> (101)..(101)

<223> n is a, t, c, or g

<400> 64

ttaggttccc gctattgcaa taccaacaag gcatgaaggc tttsgccaca atgtgaaatc 60

atcaacagtt actatgaaca atgaattcgc taacaggaaa ncgt 104

<210> 65

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> r is a or g

<400> 65

tctaattcga tgagtttgc tgaattccca agtaagaacc aaagttccat tcattctctc 60

ragcacaac ctttccacca aaacataaca cctaaatctc ttccacattc cctttccttt 120

a 121

<210> 66

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> y is c or t

<400> 66

ggagattggt gcacgcctga agaaagcctt cagaattacc attaagactt cccaactctg 60

yctgcatatt gtcaagaaag ctagagattt tctcagaagc tactttaatg gcagggccct 120

c 121

<210> 67

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> s i s c o r g

<400> 67

aggaaaatac cttccaatag aaaacatggt aaatgcaata agcatctagt tcatccaatt 60

scaagggtaa tggctagttc aagatggaac taaaactctc agagtgggtg gtgcaatcct 120

g 121

<210> 68

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> r i s a o r g

<400> 68

ggttacagag tccagagcga tcaatggaga ttgtggatgt tgaaggttca gaagagaagg 60

rtcgttgatt aaggaggtct tcattctcca ggtgctgaac gacagtacct tccggaatct 120

g 121

<210> 69

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> y i s c o r t

<400> 69

atgatcctca attcatacca tattattgta tgagctaaat gtgtataaag aaaaggaaag 60

ytatagaagg atggattcgt acattaacac aaaggataaa aactgcaaac ttatttatat 120

a 121

<210> 70

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

```

<223>  r is a or g

<220><221>

>  misc_feature

<222>  (97)..(97)

<223>  n is a, c, g, or t

<400>  70

aatgacttat ctagatggat atgataactt caccgattgt tggataaaaa agcaggtgac      60
ragttgtgtt attattgggc agtgatgtat tgtagntaa ccactgaaat tgtaaatt      120
a                                                                121

<210>  71

<211>  121

<212>  DNA

<213>  Cucumis sativus

<220><221>  misc_feature

<222>  (61)..(61)

<223>  w is a or t

<400>  71

tctttaaaag aagcttgaaa gatgaagaaa ttgcaaaatt tcaatcattt cgatccctcc      60

wctcacctga aaaagtgggt aattctgatg attttagatc atggtccatt gatccctcaa      120
t                                                                121

<210>  72

<211>  121

<212>  DNA

<213>  Cucumis sativus

<220><221>  misc_feature

<222>  (61)..(61)

<223>  y is t or c

<400>  72

attttttagat gtgagcctat ttatgtgctc ttaacttctc ttttagtaat ggtggaaatg      60
yaatttgttt atgagcaatg gtatcgtgaa taaatggttg gatacataat agctttgctt      120
g                                                                121

<210>  73

<211>  101

```

<212> DNA
 <213> Cucumis sativus
 <220><221> misc_feature
 <222> (51)..(51)
 <223> r i s g o r a
 <400> 73
 actaggtcgt gggatgtcgt tgggggacat gttaaatacca tggctgtcta raaggaattt 60
 ccataatcatt gagatctagg tgcacaaatt cctcgaacct a 101
 <210> 74
 <211> 121
 <212> DNA
 <213> Cucumis sativus
 <220><221> misc_feature
 <222> (61)..(61)
 <223> y i s t o r c
 <400> 74
 ggacattctt cacataaatc agaattgtcg tacacaaccc aaaatttctcc aattagctaa 60
 yagcgttaca gatcttcttt tccgcttctt tccacgatgt attgatatag tgtgccctga 120
 a 121
 <210> 75
 <211> 121
 <212> DNA
 <213> Cucumis sativus
 <220><221> misc_feature
 <222> (61)..(61)
 <223> y i s t o r c
 <400> 75
 aatgcaacaa ttctttcagc taaggagaag aaagaagcaa aagaagaaa acactccacc 60
 yctagccatt gccatcatc catctaaatt tcttactaag atgcataata tttccacat 120
 a 121
 <210> 76
 <211> 121
 <212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> y is t or c

<400> 76

ggagattgtt gcacgcctga agaaagcctt cagaattacc attaagactt cccaactctg 60

ycatgcatatt gtcaagaaag ctagagattt tctcagaagc tactttaatg gcagggccct 120

c 121

<210> 77

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> w is a or t

<400> 77

gtcaaaaagg tcaagtccac actcctcagc ttatgaatca aaacctgca cagaaggga 60

wcacaacaac attttcaact tttcagctta acttttggca atcatcaggt taaacagact 120

t 121

<210> 78

<211> 121

<212> DNA

<213> Cucumis sativus

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> k is g or t

<400> 78

ggattaattht gcaaaaacct taagtcgggg aattagggct aaagaggaat taaggtagaa 60

ktgattacc ctaggagatta ttgaaggata aattgagttg tgattgatta gcgaaataac 120

c 121

<210> 79

<211> 104

<212> DNA

<213> Cucumis sativus
 <220><221> misc_feature
 <222> (44)..(44)
 <223> s is g or c
 <220><221> misc_feature
 <222> (101)..(101)
 <223> n is a, c, g, or t
 <400> 79
 ttaggttccc gctattgcaa taccaacaag gcatgaaggc tttsgccaca atgtgaaatc 60
 atcaacagtt actatgaaca atgaattcgc taacaggaaa ncgt 104
 <210> 80
 <211> 121
 <212> DNA
 <213> Cucumis sativus

 <220><221> misc_feature
 <222> (61)..(61)
 <223> w is a or t
 <400> 80
 gaagtaagtt gcttgcttct ctttttttca ctaggaattg ctattcagac agttatatgc 60
 wcatttccaa tgggtgctttt ttgttcattg ttttcaatgt tgggattgac atctgtctga 120
 a 121
 <210> 81
 <211> 121
 <212> DNA
 <213> Cucumis sativus
 <220><221> misc_feature
 <222> (61)..(61)
 <223> r is g or a
 <400> 81
 acgaattttc tagttgagtc aagtcagggtt ggttggaag tgttatcaga atatgtcagt 60

 rcttgtaac tctgcactc tcttttgagg ctataaagtt agagaagagt ctctaggaag 120
 g 121
 <210> 82

<211> 121
 <212> DNA
 <213> Cucumis sativus
 <220><221> misc_feature
 <222> (61)..(61)
 <223> y is t or c
 <400> 82
 gagtttccaa aattgaacat cttcaatgga cagaaagttt tgaagtagca agacttaagg 60
 yttccacttg gtgttccctta tctaagttct cgaacaattt gcatttgatt tcttaaatat 120
 t 121

<210> 83
 <211> 121
 <212> DNA
 <213> Cucumis sativus
 <220><221> misc_feature
 <222> (61)..(61)
 <223> s is g or c
 <400> 83
 aggaaaatac cttccaatag aaaacatggt aaatgcaata agcatctagt tcatccaatt 60
 scaagggtaa tggctagttc aagatggaac taaaactctc agagtgggtg gtgcaatcct 120
 g 121

<210> 84
 <211> 121
 <212> DNA
 <213> Cucumis sativus
 <220><221> misc_feature
 <222> (61)..(61)
 <223> y is t or c
 <400> 84
 ttcatacgcc gttgcagctg aaagtggcaa ccattacttc cagatcatta tgacaataaa 60
 yaaccaagge caccttcatg cataaatggt aagataatag caagctctat accttctttt 120
 t 121

<210> 85

<211> 107
 <212> DNA
 <213> Cucumis sativus
 <220><221> misc_feature
 <222> (61)..(61)
 <223> s is g or c
 <400> 85
 actcatatTT acagaaaact tactctaaac cacaagtcct taacaaatat atttctgctt 60
 scggctctct tctatcatg aaattttgca agctattcag aaaatcc 107

<210> 86
 <211> 121
 <212> DNA
 <213> Cucumis sativus
 <220><221> misc_feature
 <222> (61)..(61)
 <223> w is a or t
 <400> 86
 gtacttgtac caatatgaaa tgtgcacatg cgctcttgtc ctagataata tgcacagtTC 60
 wccttaaaag ctaagcataa gccacaaatc caagaaccaa tgtaaccaa acagtatggg 120
 a 121

<210> 87
 <211> 121
 <212> DNA
 <213> Cucumis sativus
 <220><221> misc_feature
 <222> (61)..(61)
 <223> y is t or c
 <400> 87
 tgaagaagag cctttattgc gtcacttgga acctccttta tccatttata ttgaattggT 60
 yggTcatgaa cacaccttta ccatttatta ttcaatgccA tgattgtctt acacaggtgt 120
 g 121