

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202393279** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2024.02.06

(51) Int. Cl. *A01H 1/00* (2006.01)
A01H 5/06 (2018.01)
A01H 6/02 (2018.01)

(22) Дата подачи заявки
2021.05.28

(54) **РАСТЕНИЯ ВИДА BETA VULGARIS, РЕЗИСТЕНТНЫЕ К CERCOSPORA**

(86) PCT/EP2021/064365
(87) WO 2022/248060 2022.12.01
(71) Заявитель:
БЕЙО ЗАДЕН Б.В. (NL)

(72) Изобретатель:
**Ван Дорп Якоб, Йонг Розалин Анна
Мария, Мойта Э Коэльо Дора Лиса,
Схрейвер Альбертус Йоханнес Мария
(NL)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к растениям *Beta vulgaris*, резистентным к *Cercospora*. Настоящее изобретение также относится к способам идентификации растений *Beta vulgaris*, резистентных к *Cercospora*, к способам получения резистентных к *Cercospora* растений *Beta vulgaris* и к средствам идентификации резистентных к *Cercospora* растений *Beta vulgaris*. В частности, настоящее изобретение относится к резистентным к *Cercospora* растениям *Beta vulgaris*, содержащим первый геномный фрагмент, обеспечивающий резистентность к *Cercospora*, на хромосоме 4, где указанный первый геномный фрагмент, обеспечивающий резистентность к *Cercospora*, содержит по меньшей мере одну последовательность из группы, состоящей из SEQ ID No. 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 и 15.

A1

202393279

202393279

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-579569EA/019

РАСТЕНИЯ ВИДА *BETA VULGARIS*, РЕЗИСТЕНТНЫЕ К *CERCOSPORA*

Описание

Настоящее изобретение относится к растениям *Beta vulgaris*, резистентным к *Cercospora*. Настоящее изобретение также относится к способам идентификации растений *Beta vulgaris*, резистентных к *Cercospora*, к способам получения резистентных к *Cercospora* растений *Beta vulgaris* и к средствам идентификации резистентных к *Cercospora* растений *Beta vulgaris*.

Растения *Beta vulgaris* относятся к подсемейству *Betoideae* семейства *Amaranthaceae*. Другими членами этого семейства являются виды *Beta corolliflora*, *Beta lomatogona*, *Beta macrocarpa*, *Beta macrorhiza*, *Beta nana* и *Beta trigyna*. Растением вида *Beta vulgaris* является, в частности, растение вида *Beta vulgaris* подвида *vulgaris*. Этот подвид включает несколько групп сортов, таких как свекла (*Beta vulgaris* подвида *vulgaris* сорта *conditiva*; альтернативно называемая *Beta vulgaris* подвида *vulgaris* сорта *copra rubra*), также известная как свекла садовая, красная или столовая свекла), выращиваемая как корнеплод; сахарная свекла (*Beta vulgaris* подвида *vulgaris* сорта *altissima*), возделываемая для производства сахара; листовая свекла мангольд, или швейцарская свекла (*Beta vulgaris* подвида *vulgaris* сорта *flavescens*) и листовая шпинатная свекла (*Beta vulgaris* подвида *vulgaris* сорта *cicla*), выращиваемые ради листьев; и свекла кормовая (*Beta vulgaris* подвида *vulgaris* сорта *copra crassa*), которая также известна как кормовая свекла или кормовая свекла мангольд, и эта свекла является кормовой культурой. Геномно кодируемые признаки, такие как резистентность к болезням, у любой из этих групп сортов могут быть сообщены другому сорту искусственно с применением способов, известных специалисту в данной области.

Культивируемые растения *Beta vulgaris* выращивают по всему миру, но обычно, в регионах с умеренным климатом. Это растение предпочитает относительно прохладные температуры от 15 до 24°C. В мировом масштабе, крупнейшими производителями свеклы являются Европа, особенно Франция и Германия, Соединенные Штаты Америки и Россия. Однако, сорта свеклы выращивают и во многих других странах Европы, Азии, Африки и Южной Америки.

Церкоспорозная пятнистость листьев (CLS), вызываемая аскомицетным грибом *Cercospora beticola*, считается одной из наиболее экономически вредных заболеваний, поражающих растения вида *Beta vulgaris*, из-за ее всемирной распространенности и деструктивных свойств. Повреждение листьев растений этим заболеванием может снизить урожайность сахарной свеклы до 50%, а у свеклы листовой - снизить товарный вид и помешать механизированной уборке урожая.

Церкоспорозная пятнистость листьев встречается во всем мире в регионах, где выращивают свеклу, что приводит к значительному ущербу, особенно в регионах с теплым умеренным климатом, включая южную Европу, страны Средиземноморья,

Японию, Россию, США, а также Южную и Центральную Америку.

Заражение происходит быстро при температуре 25-35°C, особенно когда ночная температура превышает 16°C и относительная влажность выше >90%, и этому дополнительно способствуют дождливая погода и полив листьев.

Заражение начинается, когда спора попадает на лист и с помощью зародышевых трубок проникает в лист через устьица. Затем зародышевая трубка развивается в гифы, которые растут межклеточно внутри листа. Гифы вырабатывают токсины, такие как церкоспорин и бетиколин, а также другие ферменты, которые повреждают и уничтожают близлежащие растительные клетки. Этот некроз вызывает появление на листьях круглых коричневых пятен миллиметрового размера (3-5 мм), что является первым видимым признаком инфекции. По мере прогрессирования заболевания, эти коричневые пятна разрастаются и сливаются, пока сам лист не пожелтеет и не отомрет. *Cercospora* может уничтожить листву всего растения, и на этом месте должны вырастать новые листья, что требует затрачивания энергии растением и не дает возможности развиваться корнеплоду.

Cercospora распространяется посредством формирования специализированных гиф (конидиофоров), которые выходят из листа и образуют бесполое споры, называемые конидиями. Эти конидии распространяются ветром или дождем. При подходящих условиях, эти конидии могут прорасти и повторять цикл заражения. Церкоспоровая пятнистость листьев представляет собой полициклическое заболевание, характеризующееся повторяющимися циклами прорастания конидий, заражения, споруляции, высвобождения конидий и повторного заражения. При благоприятных условиях, один цикл заражения и повторного заражения может завершиться в течение десяти дней, что приводит к множественным циклам заражения в течение вегетационного периода и к быстрому распространению инфекции на соседние листья и растения.

Вне вегетационного периода, *Cercospora* может сохраняться на растительном debris в виде конидий (в течение 1-4 месяцев) и псевдостром, которые могут сохраняться 1-2 года. Альтернативно, гриб может поражать некоторые виды сорняков, растущие вместе со свеклой (например, такие как марь белая и аксирис щирицевый), а также другие овощные культуры (мангольд, шпинат).

Меры борьбы с церкоспоровой пятнистостью листьев в основном включают фунгицидную обработку и севооборот. Однако, ограничение использования фунгицидных мер весьма желательно, поскольку это влияет на окружающую среду и требует больших затрат. Более того, химический контроль с помощью фунгицидов становится все более трудным из-за распространения различных штаммов *Cercospora*, резистентных к важным химическим классам фунгицидов. Поэтому, более эффективная и длительная борьба с болезнями требует выведения сортов с генетической резистентностью.

В настоящее время, все коммерческие сорта свеклы восприимчивы к церкоспоровой пятнистости листьев, несмотря на то, что резистентные к *Cercospora* сорта сахарной свеклы присутствуют на рынке уже несколько десятилетий. Все эти толерантные сорта обладают одинаковой резистентностью, происходящей от *Beta vulgaris*

подвида *maritima* и имеющей ряд недостатков:

- Резистентность является количественной и основана на неизвестном количестве QTL, что приводит к сложным паттернам наследования. В предыдущих публикациях было идентифицировано по меньшей мере четыре или пять причинных QTL на хромосомах 2, 3, 4, 6 и 9 генома свеклы. Каждый из этих QTL внес лишь небольшой вклад в резистентность (менее 5%).

Резистентность связана со снижением агрономических показателей сахарной свеклы. Один или несколько генов резистентности могут быть фланкированы геном или генами, кодирующими нежелательные агрономические показатели. Это называется сопротивлением связи. Альтернативно, большое количество QTL ограничивает эффективный инбридинг резистентных к *Cercospora* родительских линий, что приводит к снижению жизнеспособности гибридов.

Резистентность является недостаточной для защиты урожая от церкоспорозной пятнистости листьев. Тем не менее, все еще необходимо применение фунгицидов.

Недавно был описан новый ген резистентности к *Cercospora* у растений вида *Beta vulgaris*, а в частности, у сахарной свеклы (EP3696188). Преимущество этой новой резистентности состоит в том, что она основана на одном гене и не оказывает негативного влияния на агрономические показатели сахарной свеклы. Тем не менее, резистентность, обеспечиваемая этим геном, ограничена, и для защиты культуры от церкоспорозной пятнистости по-прежнему требуется дополнительная обработка фунгицидами или дополнительная генетическая резистентность.

Следовательно, для выведения сортов свеклы с повышенной резистентностью к церкоспорозной пятнистости листьев необходимо идентифицировать новые, предпочтительно расширенные, геномно-кодированные виды резистентности, которые сами по себе обеспечивают сильный эффект резистентности без снижения агрономических показателей. Затем эту резистентность можно объединить для создания сортов свеклы, особенно коммерческих гибридных сортов свеклы, с сильной и длительной резистентностью к *Cercospora beticola*.

Учитывая вышеизложенное, целью настоящего изобретения является, среди прочего, создание новой геномно-кодируемой резистентности к *Cercospora beticola* и растений, имеющих такую резистентность. Целью настоящего изобретения, среди прочего, является создание растений свеклы, резистентных к *Cercospora beticola*.

Настоящее изобретение удовлетворяет вышеуказанной цели, а также другим целям, изложенным в формуле изобретения.

В частности, эта цель, наряду с другими целями, достигается путем выведения резистентных к *Cercospora* растений *Beta vulgaris*, содержащих геномный фрагмент, расположенный на хромосоме 4, где указанный геномный фрагмент содержит по меньшей мере одну последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID No. 1, SEQ ID No. 3, SEQ ID No. 5, SEQ ID No. 7, SEQ ID No. 9, SEQ ID No. 11, SEQ ID No. 13 и SEQ ID No. 15.

Термин «по меньшей мере один» может употребляться здесь как синоним термина «один или более». По существу, термин «по меньшей мере один» следует понимать как означающий по меньшей мере один, два, три, четыре, пять, шесть или более. Предпочтительно, обеспечивающий резистентность геномный фрагмент на хромосоме 4 содержит SEQ ID No. 5; более предпочтительно SEQ ID No. 5 и SEQ ID No. 7; более предпочтительно SEQ ID No. 3, SEQ ID No. 5 и SEQ ID No. 7; более предпочтительно SEQ ID No. 1, SEQ ID No. 3, SEQ ID No. 5, SEQ ID No. 7 и SEQ ID No. 9; а наиболее предпочтительно SEQ ID No. 1, SEQ ID No. 3, SEQ ID No. 5, SEQ ID No. 7, SEQ ID No. 9, SEQ ID No. 11, SEQ ID No. 13 и SEQ ID No. 15. Геномный фрагмент, обеспечивающий резистентность, не состоит из SEQ ID No. 2, SEQ ID No. 4, SEQ ID No. 6, SEQ ID No. 8, SEQ ID No. 10, SEQ ID No. 12, SEQ ID No. 14 и SEQ ID No. 16. Указанный геномный фрагмент, обеспечивающий резистентность и расположенный на хромосоме 4, может дополнительно содержать по меньшей мере одну последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID No. 17, SEQ ID No. 19 и SEQ ID No. 21.

Альтернативно, эта цель, помимо других целей, достигается путем выведения резистентных к *Cercospora* растений *Beta vulgaris*, содержащих комбинацию двух обеспечивающих резистентность геномных фрагментов, где первый геномный фрагмент расположен на хромосоме 4 и содержит по меньшей мере одну последовательность из группы, состоящей из SEQ ID No. 1, SEQ ID No. 3, SEQ ID No. 5, SEQ ID No. 7, SEQ ID No. 9, SEQ ID No. 11, SEQ ID No. 13 и SEQ ID No. 15, и где второй геномный фрагмент расположен на хромосоме 9 и содержит по меньшей мере одну последовательность из группы, состоящей из SEQ ID No. 23, SEQ ID No. 25, SEQ ID No. 27, SEQ ID No. 29, SEQ ID No. 31, SEQ ID No. 33, SEQ ID No. 35 и SEQ ID No. 37. Предпочтительно, чтобы указанный первый геномный фрагмент на хромосоме 4 содержал SEQ ID No. 5; более предпочтительно SEQ ID No. 5 и SEQ ID No. 7; более предпочтительно SEQ ID No. 3, SEQ ID No. 5 и SEQ ID No. 7; более предпочтительно SEQ ID No. 1, SEQ ID No. 3, SEQ ID No. 5, SEQ ID No. 7 и SEQ ID No. 9; а наиболее предпочтительно SEQ ID No. 1, SEQ ID No. 3, SEQ ID No. 5, SEQ ID No. 7, SEQ ID No. 9, SEQ ID No. 11, SEQ ID No. 13 и SEQ ID No. 15. Предпочтительно, чтобы указанный второй геномный фрагмент, обеспечивающий резистентность и находящийся на хромосоме 9, содержал SEQ ID No. 35; более предпочтительно SEQ ID No. 35 и SEQ ID No. 37; более предпочтительно SEQ ID No. 33, SEQ ID No. 35 и SEQ ID No. 37; более предпочтительно SEQ ID No. 29, SEQ ID No. 31, SEQ ID No. 33, SEQ ID No. 35 и SEQ ID No. 37; а наиболее предпочтительно SEQ ID No. 23, SEQ ID No. 25, SEQ ID No. 27, SEQ ID No. 29, SEQ ID No. 31, SEQ ID No. 33, SEQ ID No. 35 и SEQ ID No. 37. Первый геномный фрагмент, обеспечивающий резистентность, не состоит из SEQ ID No. 2, SEQ ID No. 4, SEQ ID No. 6, SEQ ID No. 8, SEQ ID No. 10, SEQ ID No. 12, SEQ ID No. 14 и SEQ ID No. 16, а второй геномный фрагмент, обеспечивающий резистентность, не состоит из SEQ ID No. 24, SEQ ID No. 26, SEQ ID No. 28, SEQ ID No. 30, SEQ ID No. 32, SEQ ID No. 34, SEQ ID No. 36 и SEQ ID No. 38. Следовательно, в одном предпочтительном варианте осуществления изобретения,

резистентное к *Cercospora* растение *Beta vulgaris* содержит SEQ ID No. 5 и SEQ ID No. 35; более предпочтительно SEQ ID No. 1, SEQ ID No. 3, SEQ ID No. 5, SEQ ID No. 7, SEQ ID No. 9, SEQ ID No. 29, SEQ ID No. 31, SEQ ID No. 33, SEQ ID No. 35 и SEQ ID No. 37; и наиболее предпочтительно SEQ ID No. 1, SEQ ID No. 3, SEQ ID No. 5, SEQ ID No. 7, SEQ ID No. 9, SEQ ID No. 11, SEQ ID No. 13, SEQ ID No. 15, SEQ ID No. 23, SEQ ID No. 25, SEQ ID No. 27, SEQ ID No. 29, SEQ ID No. 31, SEQ ID No. 33, SEQ ID No. 35 и SEQ ID No. 37.

Резистентность согласно изобретению может быть сообщена растительной клетке путем трансформации (например, с использованием *Agrobacterium tumefaciens*). Геномные фрагменты можно амплифицировать с помощью ПЦР-амплификации с множеством циклов, синтезировать *de novo* или выделять из гелей или на колонках (например, после расщепления рестриктирующими ферментами). Полученные фрагменты могут быть подвергнуты повторной сборке (например, в дрожжах) или введены в экспрессионный вектор, а затем трансформированы в клетки *Beta vulgaris*, так, чтобы эти фрагменты интегрировались в геном или рекомбинировались с геномом *Beta vulgaris*. Фрагмент может быть введен за одну стадию или за несколько серий трансформаций, что в конечном итоге будет приводить к получению растения *Beta vulgaris*, обладающего резистентностью согласно изобретению.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления изобретения, геномные фрагменты, обеспечивающие резистентность, могут быть получены, или они уже были получены или они происходят от растения *Beta vulgaris*, положенного в депозитарий NCIMB (National Collection of Industrial, Food and Marine Bacteria; NCIMB Limited, Ferguson Building; Craibstone Estate, Bucksburn Aberdeen, AB21 9YA United Kingdom) 7 мая 2021 года под номером NCIMB 43769.

Согласно предпочтительному варианту осуществления изобретения, растения *Beta vulgaris* согласно изобретению обладают цитоплазматической мужской стерильностью (CMS).

Согласно еще одному предпочтительному варианту осуществления изобретения, растения *Beta vulgaris* согласно изобретению представляют собой гибридные растения. Настоящее изобретение также относится к гибридным растениям *Beta vulgaris*, получаемым либо путем скрещивания восприимчивых к *Cercospora* растений *Beta vulgaris* с растениями *Beta vulgaris*, обладающими резистентностью к *Cercospora beticola*, либо путем скрещивания восприимчивого к *Cercospora* растения *Beta vulgaris* с растением под депозитарным номером NCIMB 43769.

В контексте настоящего изобретения рассматриваются следующие растения *Beta vulgaris*: *Beta vulgaris* подвида *vulgaris* сорта *conditiva* (свекла, красная свекла), *Beta vulgaris* подвида *vulgaris* сорта *altissima* (сахарная свекла), *Beta vulgaris* подвида *vulgaris* сорта *flavescens* (свекла мангольд, швейцарская свекла), *Beta vulgaris* подвида *vulgaris* сорта *cicla* (шпинатная свекла) и *Beta vulgaris* подвида *vulgaris* сорта *crassa* (свекла кормовая).

Настоящее изобретение также относится к способам идентификации геномно-

кодируемой резистентности к растительному патогену *Cercospora beticola*, обнаруженному у растения *Beta vulgaris*, депонированного под депозитарным номером NCIMB 43769. Этот способ включает стадию идентификации одного геномного фрагмента на хромосоме 4 путем обнаружения по меньшей мере одной геномной последовательности из группы, состоящей из SEQ ID No. 1, SEQ ID No. 3, SEQ ID No. 5, SEQ ID No. 7, SEQ ID No. 7, SEQ ID No. ID No. 9, SEQ ID No. 11, SEQ ID No. 13, SEQ ID No. 15, SEQ ID No. 17, SEQ ID No. 19 и SEQ ID No. 21. Предпочтительно, этот способ дополнительно включает идентификацию дополнительного обеспечения резистентности геномного фрагмента на хромосоме 9 путем обнаружения по меньшей мере одной геномной последовательности из группы, состоящей из SEQ ID No. 23, SEQ ID No. 25, SEQ ID No. 27, SEQ ID No. 29, SEQ ID No. 31, SEQ ID No. 33, SEQ ID No. 35 и SEQ ID No. 37. Существует несколько распространенных методов генотипирования для обнаружения полиморфизма по одному нуклеотиду (SNP) в геномной последовательности, включая методы на основе ПЦР, прямую гибридизацию, анализ фрагментов и секвенирование. Примером метода, подходящего для обнаружения геномной последовательности, является выделение ДНК из доступного растительного материала (например, из кусочка листа растения или семени) с последующей амплификацией выделенной нуклеиновой кислоты, а именно, ДНК (например, с помощью ПЦР) и детектированием присутствия указанной геномной последовательности (например, путем секвенирования, оценки флуоресценции или визуализации и анализа посредством ПЦР-амплификации с помощью электрофореза в агарозном геле).

Настоящее изобретение, соответственно, относится к способу получения растения *Beta vulgaris* согласно изобретению, включающему стадии получения растительного материала из растения вида *Beta vulgaris*, мутагенеза указанного растительного материала для создания мутагенизированного растительного материала; и анализа указанного мутагенизированного растительного материала для идентификации растения, резистентного к *Cercospora beticola*. Указанный растительный материал предпочтительно представляет собой семена.

Подходящие методы мутагенеза включают химический мутагенез (например, с использованием этилметансульфоната (EMS), N-метил-N-нитрозомочевина (MNU), N-этил-N-нитрозомочевина (ENU), азида натрия (NaN₃), метилнитрозогуанидина (MNNG), диэтилсульфоната (DES), TILLING или мутагенез посредством образования активных форм кислорода) и лучевой мутагенез (например, с использованием УФ-излучения или облучения ионным пучком). Мутагенез может приводить к образованию одной или нескольких мутаций, локализованных в кодирующей последовательности (мРНК, кДНК или геномной последовательности) или в связанной некодирующей последовательности и/или регуляторной последовательности, регулирующей уровень экспрессии кодирующей последовательности. Наличие одной или нескольких мутаций (например, инсерции, инверсии, делеции и/или замены одного или нескольких нуклеотидов)) может привести к тому, что кодируемый белок будет иметь новую или измененную функциональность

(усиление функции), пониженную функциональность (снижение функции), или будет терять свою функциональность (потеря функции), например, из-за усечения белка или наличия аминокислотной последовательности, в которой одна или несколько аминокислот были удалены, встроены или заменены. Такие изменения могут приводить к тому, что белок будет иметь другую трехмерную структуру или конформацию, будет нацелен на другой субклеточный компартмент, будет иметь один или несколько модифицированных каталитических доменов, и будет обладать модифицированной активностью связывания с нуклеиновыми кислотами или белками и т.п.

Настоящее изобретение также относится к семенам, из которых могут быть выращены растения согласно изобретению. Семена могут иметь покрытия, могут быть окрашены, промыты, отшлифованы, покрыты коркой, гранулированы, загрунтованы или подвергнуты комбинированной обработке. Семена с покрытием покрыты относительно тонким слоем полимера, нанесенного на семя; и к этому полимеру могут быть добавлены фунгициды или инсектициды для защиты семян от почвенных патогенов и повреждения насекомыми. Дополнительно можно добавить краситель. Такой дополнительный цвет дает фермеру возможность проверить правильность глубины посева семян. В качестве альтернативы, можно добавлять и другие полезные соединения в качестве микроэлементов или полезных микроорганизмов, способствующих росту молодых побегов. Покрытые коркой семена могут быть не только покрыты полимером с добавлением или без добавления дополнительных веществ, как описано выше, но также могут иметь гладкую поверхность. Это облегчает высевание, а дополнительный вес обеспечивает более точное прямое высевание семян. Шлифовка удаляет внешний слой семени, и семя принимает более округлую форму. Шлифовка и промывка способствуют прорастаню семян. При гранулировании, семена покрывают большим количеством материала, например, глины, связанной с полимером, для получения круглых гранул правильной формы. Эта гранулированная форма, помимо наличия описанных выше защитных веществ, может быть получена таким образом, что она будет расплавляться или расщепляться после поглощения воды. Грунтовка или предварительное прораствание представляют собой обработку, при которой семенам дают достаточно влаги, чтобы инициировать прораствание зародыша внутри семени. Это приводит к более быстрому появлению всходов, более высокой скорости всходов и к лучшему росту. Считается, что грунтовка приводит к улучшению корневой системы и к более быстрому росту.

Помимо растения *Beta vulgaris* согласно изобретению, настоящее изобретение также относится к семенам, к растительной клетке, к протопласту, к органу растения, к ткани растения, к съедобным частям, к пыльце, к микроспорам, к завязям, к семяпочкам, к яйцеклеткам, к каллусу, к суспензионной культуре, к соматическим эмбрионам, к эмбрионам или к частям растений *Beta vulgaris*, определенных выше, и содержащих геномный фрагмент, обеспечивающий резистентность к *Cercospora beticola*. Части растения включают, но не ограничиваются ими, побег, стебель, ствол, листья, цветки, соцветия, корни, плоды и черенки.

Настоящее изобретение также относится к молекулярным маркерам, которые совместно сегрегируются с геномно кодируемой резистентностью к патогену *Cercospora beticola* у растения с депозитарным номером NCIMB 43769, где эти молекулярные маркеры выбраны из группы, состоящей из SEQ ID No. 1, SEQ ID No. 3, SEQ ID No. 5, SEQ ID No. 7, SEQ ID No. 9, SEQ ID No. 11, SEQ ID No. 13, SEQ ID No. 15, SEQ ID No. 17, SEQ ID No. 19, SEQ ID No. 21, SEQ ID No. 23, SEQ ID No. 25, SEQ ID No. 27, SEQ ID No. 29, SEQ ID No. 31, SEQ ID No. 33, SEQ ID No. 35 и SEQ ID No. 37.

Настоящее изобретение будет также подробно описано в следующих примерах.

Примеры

Пример 1. Мутагенез растений *Beta vulgaris* с целью создания библиотеки для скрининга на резистентность к *Cercospora*

Неспецифический мутагенез с последующим прямым скринингом может представлять собой полезный метод идентификации мутантных растений *Beta vulgaris* с резистентностью к *Cercospora beticola*. Мутагенизированная библиотека может быть создана путем проведения стадии мутагенеза семян, а предпочтительно неспецифического мутагенеза. Такая стадия может включать, помимо прочего, обработку пула из 100000-200000 семян химическим мутагеном или смесью химических мутагенов, например, 0,25% EMS, в течение 16 часов при комнатной температуре; альтернативно можно использовать излучение (например, гамма-излучение от радиоактивного источника Кобальта-60). Предпочтительно создавать только слегка мутагенизированную библиотеку (где менее 1% всех генов содержат мутацию в кодирующей области). Тем не менее, стадия мутагенеза будет приводить к потере всхожести некоторых семян. В отличие от облучения, которое может привести к мутациям, варьирующимся от замен или делеций одного основания до крупных делеций, EMS вызывает преимущественно неспецифические точковые мутации в результате замены нуклеотидов, а особенно в результате алкилирования гуанина.

Мутагенизированные семена можно высевать и размножать в поле с применением стандартных методов. Из мутагенизированных семян образуются растения, каждое из которых имеет определенный набор мутаций. Растения можно собирать в виде пулов и снова высевать жизнеспособные семена (популяцию F1). Для получения популяции F1S1, семена можно собрать от растений F1 после самоопыления. Поскольку мутации будут сегрегировать в популяции F1S1, то резистентность этой популяции может быть оценена и использована для картирования резистентности к *Cercospora beticola*.

Пример 2. Полевые испытания для оценки резистентности к *Cercospora beticola*

Инокулят *Cercospora beticola* получали путем выращивания грибов на картофельно-декстрозном агаре в течение 3 недель при инкубировании под УФ-излучением в ближнем диапазоне (12 часов днем/12 часов ночью) при 25°C. Споры и мицелий соскабливали путем промывки водой, фильтровали и концентрировали до образования 10⁵ колониеобразующих единиц на мл.

Растения высевали в Нидерландах прямо в поле в середине июня и после

прорастания прореживали до расстояния 5 см между растениями. В качестве восприимчивых контрольных сортов использовали Wodan F1 и Pablo F1. 7-недельные растения инокулировали путем опрыскивания листьев суспензией спор с помощью сверхмалого объема или капельного опрыскивателя, желательнее в дождливую погоду или вечером, когда за ночь образуется роса (так как этому грибу для инфицирования требуется длительное увлажнение листьев). Инокуляцию проводили один раз в неделю до достижения заметно высокого уровня инфицирования (обычно для этого требуется 8-12 недель подряд, до середины сентября-середины октября).

Оценку резистентности к заболеванию проводили визуально по количеству и плотности типичных мелких пятен округлой или овальной формы на листьях по классификационной шкале от 0 (полная восприимчивость, тяжелые симптомы) до 9 (высокая резистентность, отсутствие симптомов). Оценка по этой классификационной шкале называется оценкой заболевания.

Пример 3. Результаты оценки резистентности к *Cercospora beticola*

Таблица 1. Оценка заболеваемости для различных генотипов и сортов

	Оценка инфицирования <i>Cercospora beticola</i> в тесте посредством инокуляции в Нидерландах
Восприимчивые сорта (а именно, Wodan и Pablo)	1-2
Растения, содержащие СВ4.1	4
Растения, содержащие СВ4.1+СВ9.1	5

Пример 4. Разработка маркеров для выявления резистентности к *Cercospora* у растения *Beta vulgaris*.

Популяция сегрегирующего картирования F1S1 была разработана для картирования резистентности к *Cercospora beticola*. Эта популяция была создана путем скрещивания резистентного растения *Beta vulgaris* с восприимчивым растением *Beta vulgaris*, после чего полученное растение F1 подверглось самоопылению. Для картирования QTL, 520 отдельных растений были протестированы в полевых испытаниях на инфицирование *Cercospora beticola*, а материал листьев этих растений был использован для выделения ДНК, генотипирования и анализа с использованием маркеров.

Для генотипирования картируемой популяции были разработаны информативные полногеномные маркеры. С использованием 399 SNP-маркеров, охватывающих весь геном, была построена генетическая карта и был проведен QTL-анализ. Были обнаружены два пика QTL. Один пик QTL был расположен на хромосоме 4 в паре оснований 45501459 общедоступного эталонного генома сахарной свеклы EL10.1 (EL10_1.0, номер доступа GenBank GCA_002917755.1) и один пик был расположен на хромосоме 9 в паре оснований 24213487 эталонного генома EL10.1. QTL были названы СВ4.1 и СВ9.1.

Чтобы сузить необходимый размер гаплотипа был проведен эксперимент по точному картированию. После предварительного отбора 3720 растений, фенотипическую

оценку уровня резистентности проводили на 962 растениях в полевых испытаниях по заражению грибом *Cercospora beticola*. Результаты показали, что СВ4.1 необходим для сообщения резистентности, и что СВ9.1 необходим для достижения наивысшего уровня резистентности, поскольку объединение двух пиков QTL дает самый высокий средний балл заражения. SNP для выявления геномно-кодируемой резистентности к *Cercospora beticola* можно найти в Таблицах 2-4. Сокращения соответствуют нуклеотидному коду IUPAC.

Семена популяции F1S1, включающей СВ4.1 и СВ9.1, были депонированы в NCIMB (NCIMB Limited, Ferguson Building; Craibstone Estate, Bucksburn ABERDEEN, Scotland, AB21 9YA, United Kingdom) 7 мая 2021 года под депозитарным номером NCIMB 43769.

Символ	Нуклеотидные основания
A	Аденин
C	Цитозин
G	Гуанин
T	Тимин
N	А или С или G или Т
M	А или С
R	А или G
W	А или Т
S	С или G
Y	С или Т
K	G или Т
V	Не Т
H	Не G
D	Не С
B	Не А

Таблица 2. SNP для выявления резистентности к *Cercospora beticola*, QTL СВ 4.1

SNP	Хромосома (EL10.1)	Положение хромосомы (п.о.) (EL10.1)	Аллель сцеплен с резистентностью	Альтернативный аллель
1	4	44276365	A	G
2	4	44440329	T	A
3	4	45501459	T	C
4	4	47197127	T	G
5	4	47371424	G	T

6	4	47419640	C	T
7	4	48257283	A	G
8	4	48338565	A	C
9	4	52795726	C	T
10	4	55593004	A	T
11	4	55597074	T	G

Таблица 3. SNP для выявления резистентности к *Cercospora beticola*, QTL CB9.1

SNP	Хромосома (EL10.1)	Положение хромосомы (п.о.) (EL10.1)	Аллель сцеплен с резистентностью	Альтернативный аллель
12	9	21546628	G	T
13	9	21859451	T	C
14	9	22691063	T	C
15	9	23659048	G	A
16	9	24117497	A	G
17	9	24118744	A	G
18	9	24213487	C	T
19	9	24369620	T	C

Таблица 4. Последовательности для выявления резистентности к *Cercospora beticola*

SEQ ID NO: №	SNP	Положение SNP в EL10.1	Последовательность
1	1	Chr4_44276365	ACACARGGGACGAAAAGCAGAACA GACA CCAACACARTAGCAATAACGACAACA AAGAGCAGCAACATAACAACAATTCAATG ACCCACTAACAATAA[A]CCACCACAMCTC CTTTAGCTAAACTCACAATCACTAATCA ATCTGCTAATTCAAATCTTGAARTGAAATA AAAATCYATTTCTRAGTAAACTCAGCAAAC
2	1	Chr4_44276365	ACACARGGGACGAAAAGCAGAACA GACA CCAACACARTAGCAATAACGACAACA AAGAGCAGCAACATAACAACAATTCAATG ACCCACTAACAATAA[G]CCACCACAMCTC CTTTAGCTAAACTCACAATCACTAATCA ATCTGCTAATTCAAATCTTGAARTGAAATA AAAATCYATTTCTRAGTAAACTCAGCAAAC

3	2	Chr4_44440329	TACTCAAGCACGTAAATGGTTCAACGAAAT GGTTCTGGATGGCTGTTCCCCTAATGTGGT GACCTACACTGCCCTAATTCATGCATACCT TAAAGTACGC[T]GGATAGGTGAAGCCAAT GAACTTTTTGAGATTATGTTGAAAGATGGA TGCAAACCGAATGTTGTGACTTATACTGCT TTAATTGATGGTTATTGTAAATC
4	2	Chr4_44440329	TACTCAAGCACGTAAATGGTTCAACGAAAT GGTTCTGGATGGCTGTTCCCCTAATGTGGT GACCTACACTGCCCTAATTCATGCATACCT TAAAGTACGC[A]GGATAGGTGAAGCCAAT GAACTTTTTGAGATTATGTTGAAAGATGGA TGCAAACCGAATGTTGTGACTTATACTGCT TTAATTGATGGTTATTGTAAATC
5	3	Chr4_45501459	GAGCTGATCCGGTTTGTTCAAACCATAAG CCTATTGTTGCTGCTATGAGGGGTGTCTGA GAGAACTGTCATGATTATCAAGAACCTAGT ATCGTCTTCGG[T]GCCATCTCTGGTATGGT AGTATTGACATAGAAAATGCCAATTTTTTC AGTTCTTGGTCATATCACTTAAGGACAGT ATGCTTGTACAGTCTTCTCTAT
6	3	Chr4_45501459	GAGCTGATCCGGTTTGTTCAAACCATAAG CCTATTGTTGCTGCTATGAGGGGTGTCTGA GAGAACTGTCATGATTATCAAGAACCTAGT ATCGTCTTCGG[C]GCCATCTCTGGTATGGT AGTATTGACATAGAAAATGCCAATTTTTTC AGTTCTTGGTCATATCACTTAAGGACAGT ATGCTTGTACAGTCTTCTCTAT
7	4	Chr4_47197127	CAAAGTAAGAAGTCGAAAATTTATATTCT AGCCTCTCTCCTCACCCCTTTTCTGTATG TTGTGTGAGCTTTGATTAGTTTTTAACGAAT ATAATTCT[T]TCGCTGCAAACCTGCAAGTG TGTATATACTCCATTTTGTATATATGAAATC ATGGAGTATTGCAGTGAGGAATCTTTGTAA GACTTTCTCTGAGAATG

8	4	Chr4_47197127	CAAAGTAAGAAGTCGAAAATTTATATTCCT AGCCTCTCTCCTCACCCCTTTTCCTGTATG TTGTGTGAGCTTTGATTAGTTTTTAACGAAT ATAATTCT[G]TCGCTGCAAACCTGCAAGTG TGTATATACTCCATTTTGTATATATGAAATC ATGGAGTATTGCAGTGAGGAATCTTTGTAA GACTTCTCTGAGAATG
9	5	Chr4_47371424	TTTCAGAATCTTCAGCTTCATGGATAGAAC CAATGTGTTGAGTATTCATCGTTGTCGATT GATAACTGACCAACTTGTCTTTCGAGTTTG CGGGAGTTG[G]ACTGGAGGGCCCAAGGTT ACAGGTTTAAGGGCTTGTGCAGCTAAGGTT TTCATGATGAAGCAGAACAATCTCTGGCAG ATTCCAAGAGATTGAAGCTGCT
10	5	Chr4_47371424	TTTCAGAATCTTCAGCTTCATGGATAGAAC CAATGTGTTGAGTATTCATCGTTGTCGATT GATAACTGACCAACTTGTCTTTCGAGTTTG CGGGAGTTG[T]ACTGGAGGGCCCAAGGTT ACAGGTTTAAGGGCTTGTGCAGCTAAGGTT TTCATGATGAAGCAGAACAATCTCTGGCAG ATTCCAAGAGATTGAAGCTGCT
11	6	Chr4_47419640	CCAACAACCTTRTTTCTCCAACCTCTTCCTCTT AGCTTCCATATYCATGCCTTGTGCCAAATC CATTAAATTTCAACTATCCCTGCAGTTTTCAA CTTTGGCGA[C]TCGAATTCTGATACCGGTG CTCTTGTGGCTTCTGGACTCGAGGGGATYA CTGATCCCTACGGACARACTTACTTCANAA AACCATCAGGAAGATAACAGTG
12	6	Chr4_47419640	CCAACAACCTTRTTTCTCCAACCTCTTCCTCTT AGCTTCCATATYCATGCCTTGTGCCAAATC CATTAAATTTCAACTATCCCTGCAGTTTTCAA CTTTGGCGA[T]TCGAATTCTGATACCGGTG CTCTTGTGGCTTCTGGACTCGAGGGGATYA CTGATCCCTACGGACARACTTACTTCANAA AACCATCAGGAAGATAACAGTG

13	7	Chr4_48257283	TTACTTTTGCCAAGAATATACTTTGTTTGCA TGGTTCAACGTAAAGTTGATTGGTGCAGAGA ARTGTTATATTTTCTGGTKTGGGCCACCAG AAACGYAGC[A]CTTTTCCACAKWACACTA AATGGATCCTTTCTGGACCTGGCAAACCTA GGTTGTACACCCAAATAACTATATAGGTAG GAATTTACTGTATTCCAAAT
14	7	Chr4_48257283	TTACTTTTGCCAAGAATATACTTTGTTTGCA TGGTTCAACGTAAAGTTGATTGGTGCAGAGA ARTGTTATATTTTCTGGTKTGGGCCACCAG AAACGYAGC[G]CTTTTCCACAKWACACTA AATGGATCCTTTCTGGACCTGGCAAACCTA GGTTGTACACCCAAATAACTATATAGGTAG GAATTTACTGTATTCCAAAT
15	8	Chr4_48338565	AACGGTTGGAATTTTTCTGAAGACATTACT GTTTTGTAATTGTCCATGAAGGTGACTAGC TTCGGGAATGGTCATTTTAGGTGCAAGCGA TGATCTTGTT[A]TNTGAGTGGTCAATCTTG ATGGAAGAAATGCTTAGGGATGGTGTTTG TNTGCTAAGAATGGAGAAGAAACCAATAA GCTAAGATCAGTTCATGTCTCGT
16	8	Chr4_48338565	AACGGTTGGAATTTTTCTGAAGACATTACT GTTTTGTAATTGTCCATGAAGGTGACTAGC TTCGGGAATGGTCATTTTAGGTGCAAGCGA TGATCTTGTT[C]TNTGAGTGGTCAATCTTG ATGGAAGAAATGCTTAGGGATGGTGTTTG TNTGCTAAGAATGGAGAAAACCAATAAGC TAAGATCAGTTCATGTCTCGT
17	9	Chr4_52795726	CTATTAGTTTTGATGTGTCATTTTATGGTGC TGATTTTGTATGGTATTCCTGAACATGCT ACTAGTCTTGCACTTAAGCCTACTAGAGGC CCCGGTAT[C]GAACATTCGGAACCTTATAG GCTTTTAACTTGGATGTGTTGAATATCTTC ATGAGTCGCCTTTCGGGTTGTATGGATCNA TTCCGTTTCATGCTTGGTC

18	9	Chr4_52795726	CTATTAGTTTTGATGTGTCATTTTATGGTGC TGATTTTGTTTATGGTATTCCTGAACATGCT ACTAGTCTTGCCTTAAGCCTACTAGAGGC CCCGGTAT[T]GAACATTCGGAACCTTATAG GCTTTTAACTTGGATGTGTTGAATATCTTC ATGAGTCGCCTTTCGGGTTGTATGGATCNA TTCCGTTTCATGCTTGGTC
19	10	Chr4_55593004	TGCGCCAAATTATCAACCTGTGGTGCATGA ACTTATACATGAAAAAAAAACGAACTCAT ACATGAAAACCAAAGAGGTGGACCCTAA ATGTAATAAC[A]AACCTGGTGAGTGAGCCA CATGAGCAAGATATCAACAGCAGGGACCA AGACACTTGAAGAAGCATCACCATCAACAT CCCCATCATCTTGTTGGATTACC
20	10	Chr4_55593004	TGCGCCAAATTATCAACCTGTGGGTGCATG AACTTATACATGAAAAACAACGAACT CATACATGAAAACCAAAGAGGTGGACCC TAAATGTAATAAC[T]AACCTGGTGAGTGAG CCACATGAGCAAGATATCAACAGCAGGGA CCAAGACACTTGAAGAAGCATCACCATCA ACATCCCCATCATCTTGTTGGATTACC
21	11	Chr4_55597074	AGAATGTGAGGGGAAGAAACMGAAGATGC ATTGCATGAAGAAGGATGRAGTATAATAG AACCCCAATCCCTCTCTCCATACTTGGCCTC TTTCAGTCTTC[T]CCTTACTAACAATCCTCC CACATCTTCTTTTCTCATCTCAGAAACACTC CTCAGTATTGCAAGGCAYAATAACAGCAC GAAAaCAGCRTCTTCTTCTGGC
22	11	Chr4_55597074	AGAATGTGAGGGGAAGAAACMGAAGATGC ATTGCATGAAGAAGGATGRAGTATAATAG AACCCCAATCCCTCTCTCCATACTTGGCCTC TTTCAGTCTTC[G]CCTTACTAACAATCCTCC CACATCTTCTTTTCTCATCTCAGAAACACTC CTCAGTATTGCAAGGCAYAATAACAGCAC GAAAaCAGCRTCTTCTTCTGGC

23	12	Chr9_21546628	AAAGAAATACTTTGACATGGTGGCGTAART TTTCCCGTGCTTAGACTGATAAATCCAACA TCAATTCTATTATCATGAAAAAGCAAATTT ACCTCTTT[G]GATATTTGCTGCAGAATAGG TATGATCTCAGCGAAGTCAGGTCTCATTGC AGGATCTTGCTGCCAGCATCTTCAAGAAG CTCGGTAAGCTTGGGATGAC
24	12	Chr9_21546628	AAAGAAATACTTTGACATGGTGGCGTAART TTTCCCGTGCTTAGACTGATAAATCCAACA TCAATTCTATTATCATGAAAAAGCAAATTT ACCTCTTT[T]GATATTTGCTGCAGAATAGG TATGATCTCAGCGAAGTCAGGTCTCATTGC AGGATCTTGCTGCCAGCATCTTCAAGAAG CTCGGTAAGCTTGGGATGAC
25	13	Chr9_21859451	AAGCAGATCCTTAACTTCCCTTCTTAACTG ACGCAGTTTTGAGTCTTAAGAATGACAACC CTATGCTTTCATTTGGATATTCAATGTCTAC TGAAGCCAC[T]ACTACAGGCTTGATTACTG TTAAATTTGTACCAAATGGGTAAATTACA GTTTATTGTTCTACTGATAATGATTTTTGTA AACATTCAAGTGCTTTGTAT
26	13	Chr9_21859451	AAGCAGATCCTTAACTTCCCTTCTTAACTG ACGCAGTTTTGAGTCTTAAGAATGACAACC CTATGCTTTCATTTGGATATTCAATGTCTAC TGAAGCCAC[C]ACTACAGGCTTGATTACTG TTAAATTTGTACCAAATGGGTAAATTACA GTTTATTGTTCTACTGATAATGATTTTTGTA AACATTCAAGTGCTTTGTAT
27	14	Chr9_22691063	CAAAGACTATAAGGGTCAAGTTGAAGCA AACTTGAGTGGTCCTCCACTGGATCATTG TCTCTATTGTCTTAATGCAACAAACGACTT GAAACCATC[T]AAAAACAATAGATAGGAT GATTCCACTAGAATCATCATTGCGAATAAG CAACCAAGGATCTTATTGTTTACCACATA AACATTCATATTGATCACCATG

28	14	Chr9_22691063	<p> CAAAAGACTATAAGGGTCAAGTTGAAGCA AACTTGAGTGGTCCTCCACTGGATCATTG TCTCTATTGTCTTAATGCAACAAACGACTT GAAACCATC[C]AAAAACAATAGATAGGAT GATTCCACTAGAATCATCATTGCGAATAAG CAACCAAGGATCTTTATTGTTTACCACATA AACATTCATATTGATCACCATG </p>
29	15	Chr9_23659048	<p> ATATCATTGAAAAATAATATTGAGGAAAT AAAGTTCAACCTGTTTAGCACCTAGACCAA GGTTGCATTGCCAGATAGATAAGGTTTCGA GCGATCAGC[G]GTTTTGCAGAGCATAGAA AGTGCTGCAGTAGCTCCCCTTGTATAGCC TGCATGTCCTCCAAAATGGTGAGAAGCTGA ATAGCTTAAGATTCATAATTCT </p>
30	15	Chr9_23659048	<p> ATATCATTGAAAAATAATATTGAGGAAAT AAAGTTCAACCTGTTTAGCACCTAGACCAA AGGTTGCATTGCCAGATAGATAAGGTTTCG AGCGATCAGC[A]GTTTTGCAGAGCATAGAA AGTGCTGCAGTAGCTCCCCTTGTATAGCC TGCATGTCCTCCAAAATGGTGAGAAGCTGA ATAGCTTAAGATTCATAATTCT </p>
31	16	Chr9_24117497	<p> AGGTAATATATAAAACAGAGGCAATCTCA CAATAAAACAGTTATCATGGSGATCAGATT CACAAACCCGTAACAGCAACATGAGGGTC AAAACAGCCACC[A]GATAAACTTCAAAAA GCCCGACCCGACCCA ACTACTGGGCAGCA ACAGCCA ACTTAAAGCTTACCAGCCCAAGC TACGAYCAATCAACATKGTAACATC </p>
32	16	Chr9_24117497	<p> AGGTAATATATAAAACAGAGGCAATCTCA CAATAAAACAGTTATCATGGSGATCAGATT CACAAACCCGTAACAGCAACATGAGGGTC AAAACAGCCACC[G]GATAAACTTCAAAAA GCCCGACCCGACCCA ACTACTGGGCAGCA ACAGCCA ACTTAAAGCTTACCAGCCCAAGC TACGAYCAATCAACATKGTAACATC </p>

33	17	Chr9_24118744	GACACCACCTAATCAAATAATGCTTTCTTC ATTAGTAGGGAACCCTATCCAAGAACAAG AACTTACCTCAAGTGATTTTCGAGGTGAGG GGCTACGAGAG[A]TTCCAGCTTCCCCACGC GGAAACYGCCTGRGGAGAAGCCAAACGAT GAGGAATTGGTGCWCGTTCATCRAGGCCG YGCTTCTCTGGGCTACGACTCCT
34	17	Chr9_24118744	GACACCACCTAATCAAATAATGCTTTCTTC ATTAGTAGGGAACCCTATCCAAGAACAAG AACTTACCTCAAGTGATTTTCGAGGTGAGG GGCTACGAGAG[G]TTCCAGCTTCCCCACGC GGAAACYGCCTGRGGAGAAGCCAAACGAT GAGGAATTGGTGCWCGTTCATCRAGGCCG YGCTTCTCTGGGCTACGACTCCT
35	18	Chr9_24213487	AAGAATTCTTTGTGTTAAGGTGGTTGTGTG ATGTATGTTTGATAGTAGCAAAGATTCCTT TGATATATGTAGATTAATAGTCAATTTTTAT CTATCAT[C]TGTAGTAGCACTCTCAAGTTC ATCTGATAATTCGTGTAATAATTCTGAACG CTTGAATGCATTGGTTGTTTTTGTTTAGACA TTAAACTCTTTTGTTTCAGG
36	18	Chr9_24213487	AAGAATTCTTTGTGTTAAGGTGGTTGTGTG ATGTATGTTTGATAGTAGCAAAGATTCCTT TGATATATGTAGATTAATAGTCAATTTTTAT CTATCAT[T]TGTAGTAGCACTCTCAAGTTC ATCTGATAATTCGTGTAATAATTCTGAACGC TTGAATGCATTGGTTGTTTTTGTTTAGACAT TAAACTCTTTTGTTTCAGG
37	19	Chr9_24369620	AACTTATATTACATGAGTGACATTCATATA GGTCACTTACGCGAACATCTGGTAGATTAT CAATGCCTAAATTTGAAGTATCCTTCTCAT ATTCAACAGG[T]CCACATGAATTAATTATA GTTGCAAGGGAAAGGTCCAGCGTGGAGTT GCCATCCTCAGAATTCACGCACATATGCTG TTAGATAGCAGCATACAAATGTT

38	19	Chr9_24369620	AACTTATATTACATGAGTGACATTCATATA GGTCACTTACGCGAACATCTGGTAGATTAT CAATGCCTAAATTTGAAGTATCCTTCTCAT ATTCAACAGG[C]CCACATGAATTACTTATA GTTGCAAGGGAAAGGTCCAGCGTGGAGTT GCCATCCTCAGAATTCACGCACATATGCTG TTAGATAGCAGCATACAAATGTT
----	----	---------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Резистентное к *Cercospora* растение *Beta vulgaris*, содержащее первый геномный фрагмент, обеспечивающий резистентность к *Cercospora*, на хромосоме 4, где указанный первый геномный фрагмент, обеспечивающий резистентность к *Cercospora*, содержит по меньшей мере одну последовательность из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 и 15.

2. Растение *Beta vulgaris* по п. 1, где указанный первый геномный фрагмент, обеспечивающий резистентность к *Cercospora*, дополнительно содержит по меньшей мере одну последовательность из группы, состоящей из SEQ ID NO: 17, 19 и 21.

3. Растение *Beta vulgaris* по п. 1 или 2, где указанное растение содержит второй геномный фрагмент, обеспечивающий резистентность к *Cercospora*, на хромосоме 9, где указанный второй геномный фрагмент, обеспечивающий резистентность к *Cercospora*, содержит по меньшей мере одну последовательность из группы, состоящей из SEQ ID Nos. 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35 и 37.

4. Растение *Beta vulgaris* по любому из пп. 1-3, где первый и второй геномные фрагменты, обеспечивающие резистентность к *Cercospora*, были получены, могут быть получены или происходят от растения *Beta vulgaris*, депонированного под депозитарным номером NCIMB 43769.

5. Растение *Beta vulgaris* по любому из пп. 1-4, содержащее первый геномный фрагмент, обеспечивающий резистентность к *Cercospora*, на хромосоме 4, где указанный первый геномный фрагмент, обеспечивающий резистентность к *Cercospora*, содержит SEQ ID No. 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 и 15, и второй геномный фрагмент, обеспечивающий резистентность к *Cercospora*, на хромосоме 9, где указанный второй геномный фрагмент, обеспечивающий резистентность к *Cercospora*, содержит SEQ ID NO: 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35 и 37.

6. Растение *Beta vulgaris* по любому из пп. 1-5, где указанное растение имеет цитоплазматическую мужскую стерильность (CMS).

7. Растение *Beta vulgaris* по любому из пп. 1-5, где указанное растение представляет собой гибридное растение.

8. Растение *Beta vulgaris* по любому из пп. 1-5, где указанное растение представляет собой растение *Beta vulgaris*, депонированное под депозитарным номером NCIMB 43769.

9. Растение *Beta vulgaris* по любому из пп. 1-8, где растение выбрано из группы, состоящей из растения *Beta vulgaris* подвида *vulgaris* сорта *conditiva* (свеклы, красной свеклы), *Beta vulgaris* подвида *vulgaris* сорта *altissima* (сахарной свеклы), *Beta vulgaris* подвида *vulgaris* сорта *flavescens* (свеклы мангольд, швейцарской свеклы), *Beta vulgaris* подвида *vulgaris* сорта *cicla* (шпинатной свеклы) и *Beta vulgaris* подвида *vulgaris* сорта *crassa* (свеклы кормовой).

10. Способ идентификации геномно-кодируемой резистентности к растительному патогену *Cercospora*, обнаруженному в растении *Beta vulgaris*, депонированном под

депозитарным номером NCIMB 43769, где указанный способ включает стадию идентификации первого геномного фрагмента, обеспечивающего резистентность к *Cercospora*, на хромосоме 4 путем обнаружения по меньшей мере одной геномной последовательности из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 и 21.

11. Способ по п. 10, где указанный способ дополнительно включает идентификацию второго геномного фрагмента, обеспечивающего резистентность к *Cercospora*, и расположенного на хромосоме 9, путем обнаружения по меньшей мере одной геномной последовательности из группы, состоящей из SEQ ID NO: 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35 и 37.

12. Способ получения растения *Beta vulgaris* по любому из пп. 1-9, включающий стадии получения восприимчивого к *Cercospora* растительного материала из растения вида *Beta vulgaris*; мутагенеза указанного растительного материала, восприимчивого к *Cercospora* в целях создания мутагенизированного растительного материала; анализа указанного мутагенизированного растительного материала для идентификации растения, обладающего резистентностью к *Cercospora beticola*.

13. Семена или часть растения *Beta vulgaris* по любому из пп. 1-9.

14. Семена по п. 13, где указанные семена были отшлифованы, имели покрытие, были покрыты коркой, были гранулированы или высажены в грунт.

15. Молекулярный маркер, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35 и 37.

По доверенности