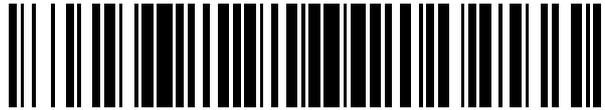


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 314 992**

51 Int. Cl.:

**A01H 5/12** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA MODIFICADA  
TRAS OPOSICIÓN

T5

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.07.1998 PCT/NL1998/00412**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **28.01.1999 WO9903329**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.07.1998 E 98935398 (2)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea modificada tras oposición: **02.11.2016 EP 0942643**

54 Título: **Lechuga de múltiples hojas**

30 Prioridad:

**15.07.1997 NL 1006588**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente modificada:  
**29.05.2017**

73 Titular/es:

**RIJK ZWAAN ZAADTEELT EN ZAADHANDEL B.V.  
(100.0%)  
BURGEMEESTER CREZEELAAN 40  
2678 KX DE LIER, NL**

72 Inventor/es:

**MOOR, CORNELIS MARINUS y  
BERG, JURJEN JOHANNES**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

## DESCRIPCION

Lechuga de múltiples hojas

5 La presente invención se refiere a una nueva forma característica de cabeza de lechuga, al uso de la nueva característica en el desarrollo de nuevos tipos de plantas de lechuga que se diferencian morfológicamente de las plantas de lechugas conocidas hasta ahora, y a cabezas de lechuga que contienen esta característica y que se diferencian por tanto morfológicamente de las cabezas de lechuga conocidas.

10 Hoy día existe una gran diversidad de variedades de lechugas. En la actualidad se conocen más de un millar de variedades cultivadas que se dividen en líneas generales en los grupos de lechuga cabeza de mantequilla, lechuga iceberg, lechuga batavia, lechuga cos o lechuga romana, lechuga hoja de roble, y lechuga lollo. Esta clasificación se basa en la morfología de la hoja y en el grado de formación de la cabeza. Sin embargo, se utilizan otras clasificaciones en adición a ésta. Así la lista de la UPOV (Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones vegetales) de descripciones de variedades de lechugas se refiere por ejemplo a los seis grupos siguientes: lechuga cabeza de mantequilla, lechuga rizada, lechuga cos, lechuga "grasa", lechuga para cortar y lechuga de tallo.

15 La lechuga de cabeza conocida, conocida también como lechuga cabeza de mantequilla, y la lechuga iceberg tienen el inconveniente de que en estos tipos de lechuga las hojas exteriores de una cabeza de lechuga son claramente mucho más grandes que las hojas interiores. Para aplicaciones en las que se utilizan las hojas enteras cortadas o despegadas, tales como en los sandwiches, en las hamburguesas y similares, se prefieren las hojas de un tamaño lo más uniforme posible. En el caso de cabezas de lechuga con una clara heterogeneidad en el tamaño de las hojas, tales como los tipos de lechugas que forman cabezas, lechuga cabeza de mantequilla o lechuga de cabeza, lechuga iceberg, lechuga batavia, lechuga cos o lechuga romana y lechuga "grasa", las hojas grandes más exteriores o bien no serán utilizables o bien tendrán siempre que ser reducidas de tamaño antes de utilizarlas mediante corte o rasgado. Aparece bastante rápidamente un oscurecimiento sobre el corte o los bordes de la división con lo que la lechuga pierde su aspecto atractivo y también puede aparecer la descomposición más rápidamente. En el procedimiento automático de corte de la lechuga tienen lugar problemas similares.

25 El objetivo de esta invención es proporcionar un nuevo tipo de lechuga con el que se puedan evitar los problemas descritos anteriormente.

30 De acuerdo con la invención se proporciona ahora un tipo de lechuga según la reivindicación 1, que en comparación con los tipos conocidos de lechuga, comprende significativamente más hojas de dimensiones sustancialmente iguales en la etapa de la recolección. Se entiende que el término "de dimensiones sustancialmente iguales" significa que las hojas de este tipo llamado multihojas tienen como promedio una longitud más corta y un peso más bajo en relación con una planta de lechuga normal con una morfología de las hojas comparable, y con un peso de la planta comparable.

35 En el caso de la lechuga cabeza de mantequilla del nuevo tipo, debido al número significativamente más alto de hojas y a la longitud media más corta de las hojas, un gran número en sentido absoluto, y una gran parte en sentido relativo, de las hojas recolectables están dentro del tamaño de 4 a 12 cm de longitud (véase la Tabla 1).

Se entiende que el término "significativamente más hojas" significa en este caso, al menos 1½ veces más hojas que un tipo con una morfología comparable de las hojas en igual (o comparable) peso de planta, preferiblemente al menos dos veces más hojas, más preferiblemente al menos 2½ veces más hojas, y lo más preferiblemente al menos 200 hojas de dimensiones sustancialmente iguales.

40 La lechuga proporcionada según la invención es por sí misma un nuevo tipo pero puede tener diferentes morfologías de las hojas que a su vez se originan de otros tipos de lechuga. El tipo de lechuga según la invención es siempre, sin embargo, lechuga "multihojas".

45 La característica "significativamente más hojas de dimensiones sustancialmente iguales" es una nueva forma característica de cabeza y será designada además como característica "multihojas" y asimismo forma parte de la invención. La presencia de la característica multihojas en una planta de lechuga se puede determinar simplemente comparando el número total de hojas de una planta de lechuga lista para recolectar de la que se sospecha que tiene la característica multihojas con el número total de hojas de una planta de lechuga lista para recolectar que es comparable con respecto a la morfología de las hojas y al peso de la planta pero que ciertamente no tiene la característica multihojas (planta control). Cuando la lechuga que se sospecha que es multihojas tiene al menos 1½ veces más hojas que la planta control, se puede establecer que la característica multihojas está presente. En tales plantas se hace uso en ese caso de la característica según la invención. Se ha hecho uso también de la característica en la fabricación de tales plantas.

55 La característica multihojas significa en realidad que las plantas tienen una constitución genética que mejora la aparición de la fasciación en una determinada etapa del crecimiento vegetativo. La fasciación aparece en la lechuga cabeza de mantequilla en una etapa relativamente temprana del crecimiento vegetativo.

La fasciación, denominada también formación de bandas, es un fenómeno no deseado en sí mismo que puede ocurrir en muchos tipos de plantas vasculares. Este fenómeno ya fue descrito en 1948 por White en "Fasciation", Bot. Rev. 14, 319-358 (1948). La fasciación en las lechugas se caracteriza por que el ápice de un tallo se va haciendo cada vez más ancho cuando empieza a alargarse. Normalmente resulta un ápice de forma de cono. Sin embargo, en el caso de la fasciación, se forma una banda plana, ancha y de tipo cresta (ranurada) de tejido meristemático. Es sabido que la fasciación en la lechuga tiene una base genética y que se hereda de forma recesiva (Haque & Godward, Genetica-Iberica 38, 139-155 (1986)) o de forma aditiva (Eenink & Garretsen, Euphytica 29, 653-660 (1980)). En adición, se han descrito también las influencias de las condiciones ambientales sobre la expresión de la fasciación (Eenink & Garretsen, cita anterior).

La fasciación en la lechuga es un fenómeno que ha sido conocido desde hace algún tiempo y que se consideró durante mucho tiempo principalmente como desventajoso, debido a que las líneas sometidas para registro bajo el tratado de la UPOV a menudo no reaccionaron de forma uniforme a la fasciación y debido a que la fasciación dificulta la producción de semillas. Sin embargo, la fasciación tiene también un lado positivo, ya que las plantas con fasciación son de producción lenta de flores y semillas lo que es una ventaja particular para las variedades de invernadero en el periodo de verano.

Según la invención el fenómeno de la fasciación ha sido utilizado ahora para llegar a un tipo enteramente nuevo de lechuga. Por selección específica ha sido posible aumentar, avanzar respectivamente el grado y el tiempo de fasciación, con lo que se forma ya un ápice fasciado, por ejemplo en la lechuga cabeza de mantequilla, en una etapa muy temprana del crecimiento vegetativo. La planta final de lechuga adquiere por ello una cabeza tipo roseta que va acumulando un número muy grande de hojas de tamaño sustancialmente igual sobre una base de un tallo muy alargado.

La ventaja de las nuevas plantas de lechuga según la invención es que se puede cortar un número muy grande de hojas de dimensiones sustancialmente iguales desde una cabeza de lechuga. Además, debido a la circunferencia muy aumentada del tallo, se pueden cortar las hojas del tallo en el lugar de su peciolo más fácilmente que en los tipos de lechuga con una morfología de hojas comparable. Con ello, solamente se produce una superficie de corte limitada y las propias hojas permanecen intactas.

Debido a sus dimensiones sustancialmente iguales, las hojas son particularmente adecuadas para utilizar por ejemplo en sandwiches o hamburguesas, o en ensaladas pre-cortadas.

En los ejemplos y figuras que acompañan como ilustración de la invención se describen y se muestran la obtención (ejemplo 1), el grado de expresión y herencia (ejemplo 2) y el aspecto (figuras) de una cabeza de lechuga con una morfología de las hojas de la lechuga cabeza de mantequilla.

La característica multihojas se puede combinar sin embargo, con características de otros tipos de lechugas, tales como la forma de las hojas, el espesor de las hojas, los bordes, el color de las hojas y la consistencia de las hojas (por ejemplo el rizado). Estas características se pueden transferir de otros tipos de lechuga al tipo descrito aquí. Esta transferencia puede tener lugar por medio de técnicas de DNA recombinante y/o por cruce convencional. Las variantes que resultan de esta manera están asimismo dentro del alcance de la presente invención.

Se entiende que "morfología de las hojas" significa la totalidad de las características fenotípicas que proporcionan a una hoja el aspecto característico del tipo de lechuga asociado.

Las figuras 1-3 muestran respectivamente la sección superior, inferior y transversal de una cabeza de lechuga cabeza de mantequilla multihojas según la invención. A modo de comparación, las figuras 4 y 5 muestran las vistas de la parte superior e inferior de una cabeza de lechuga cabeza de mantequilla. En la parte inferior de la cabeza de lechuga multihojas es claramente visible que la cabeza tiene un número mayor de hojas de dimensiones más pequeñas que la cabeza de lechuga cabeza de mantequilla. La figura 6 muestra una cabeza típica de lechuga multihojas de la que ha sido separada la base del tallo. La figura 7 muestra una comparación entre las hojas separadas de una cabeza de lechuga cabeza de mantequilla (parte superior) y una cabeza de lechuga cabeza de mantequilla multihojas según la invención (abajo).

La presente invención será ilustrada con referencia a los ejemplos que siguen.

#### EJEMPLO 1

##### Obtención de plantas de lechuga cabeza de mantequilla con característica multihojas

Se realizó una hibridación (designada con el número 5358) entre dos plantas de lechuga del tipo de lechuga cabeza de mantequilla. Esta fue una hibridación entre dos líneas de selección del solicitante. La línea madre tenía el código 16487 y la línea padre tenía F4 [1366 OPG x F2 (15336 x Troppo x 1600 x Bizet)].

En la F2 de esta hibridación se encontró una planta un año más tarde con características semejantes a las de la planta de la invención. Se recogieron semillas de esta planta y estas semillas se sembraron al año siguiente con el

fin de evaluar las características externas en un número mayor de plantas progenie. De estas plantas F3 se seleccionaron un número de plantas basándose una vez más en la combinación del fenotipo (nuevo) según la invención y de otras características que determinan la calidad (espesor de las hojas, forma de las hojas, color de las hojas, forma de la cabeza, estructura de la cabeza, rendimiento, resistencia a mildiú de la lechuga, etc.).

- 5 Se continuó este proceso de selección de la línea en los 10 años siguientes, y se obtuvo así una línea pura (designada con el número 5338). Esta línea es una buena combinación de un nuevo fenotipo según la invención y de las otras características que determinan la calidad.

- 10 Para una mejora adicional del fenotipo de las plantas de la invención, se cruzó esta línea dos años más tarde con la variedad S0256. En la progenie de esta hibridación se hizo una vez más una rigurosa selección a partir de la F2 para plantas con un número muy grande de hojas de dimensiones sustancialmente iguales, combinado con características atractivas de hojas y cabeza y otras características deseables para el cultivo de la lechuga. Después de la selección de plantas en la F2 y de la selección de la línea a partir de la generación F3, se obtuvo finalmente tres años más tarde una línea suficientemente pura, que se designa con el número RZ 97.41561, y sus semillas se depositaron el 1 de abril de 1997 en The National Collections of Industrial and Marine Bacteria Limited (23 St. Machar Drive, Aberdeen AB2 1RY, Scotland, UK) con el número NCIMB 40877 con el fin de ilustrar la invención.

## EJEMPLO 2

### Grado de expresión y herencia de la característica multihojas

- 20 Se sembraron y después se cultivaron plantas de varias variedades estándar del tipo de lechuga cabeza de mantequilla para cultivo en invernadero (Floris RZ, Vegas RZ y Limit RZ), de dos líneas multihojas (Nº 5338 y RZ 97.41561) y de una F2 entre una línea normal de lechuga cabeza de mantequilla y la línea multihojas Nº 5338. Se llevó a cabo el cultivo en un régimen estándar de cultivo para lechugas de invernadero. Las observaciones se realizan en una media de 4 plantas por variedad o línea. Se prepararon las plantas para subasta antes de la evaluación, esto es, se separaron las hojas viejas con depósitos o las hojas amarillentas.

Tabla 1. Peso medio de la cabeza en gramos ( $\pm$  SE), número de hojas (N) con una longitud de hoja mayor de 4 cm distribuidas a lo largo de un número de clases de longitud ( $\pm$  SE), y el cociente de peso medio de la cabeza y número total de hojas más largas de 4 cm ( $\pm$  SE), de tres variedades de lechuga cabeza de mantequilla (no multihojas) y dos líneas multihojas.

Variedad/línea	Multihojas	PESO (gramos)	N 4-8 cm	N 8-12 cm	N 12-16 cm	N > 16 cm	N total (> 4 cm)	% de tamaño 4-12 cm	PESO/N total
Floris RZ	no	383 $\pm$ 33	7,8	9,8	16,5	0,0	34,0 $\pm$ 3,1	52	11,3 $\pm$ 0,33
Vegas RZ	no	464 $\pm$ 80	8,8	8,5	21,5	5,0	43,7 $\pm$ 4,6	40	10,6 $\pm$ 0,94
Limit RZ	no	410 $\pm$ 34	19,8	10,5	23,3	5,8	59,2 $\pm$ 5,6	51	6,9 $\pm$ 0,84
Nº 5338	sí	419 $\pm$ 39	44,8	43,5	50,5	0,0	138,8 $\pm$ 25,3	68	3,0 $\pm$ 0,25
RZ 97.41561	sí	430 $\pm$ 29	168,0	87,8	19,5	0,0	275,3 $\pm$ 35,2	93	1,6 $\pm$ 0,18

5 La Tabla 1 ilustra las diferencias que se pueden encontrar en las variedades comerciales lechuga de mantequilla (no multihojas) en cuanto al número de hojas más largas de 4 cm: la variedad Floris RZ tiene relativamente pocas hojas, la variedad Limit RZ tiene casi dos veces más hojas en la categoría de hojas más largas de 4 cm. La variedad Limit RZ fue incluida en este experimento porque se sabe que esta variedad forma relativamente muchas hojas. Sin embargo, la línea multihojas N° 5338 tiene más del doble de hojas en la categoría medida que la variedad Limit RZ y la línea RZ 97.41561, tiene incluso cuatro veces más. Este aumento en el número de hojas va acompañado de un aumento muy marcado (tanto en términos absolutos como en porcentaje) de las hojas de la categoría de longitud de 4-12 cm y de un aumento muy marcado en el peso medio por hoja.

10 Se evaluaron 76 plantas de la F2 (lechuga cabeza de mantequilla x N° 5338). La lechuga cabeza de mantequilla que se utilizó para el cruce se parecía mucho a la variedad Vegas RZ con respecto a la morfología. La Tabla 2 da la distribución de frecuencia del número de hojas más largas de 4 cm por cabeza de lechuga. La tabla 3 muestra la distribución de frecuencia del cociente de peso de la cabeza y número de hojas más largas de 4 cm.

15 Tabla 2. Distribución de frecuencia en cuanto al número de hojas más largas de 4 cm de 76 plantas de una población F2 procedente de una hibridación entre una línea de lechuga cabeza de mantequilla (no multihojas) y la línea N° 5338 (multihojas)

Clase: número de hojas más largas de 4 cm	Número de plantas
< 40	0
40-50	7
50-60	24
60-70	20
70-80	6
80-90	2
90-100	5
100-110	1
110-120	2
120-130	2
130-140	1
140-150	2
150-160	2
160-170	1
>170	1
>Total	76

Tabla 3. Distribución de frecuencia del cociente de peso de la cabeza y número de hojas más largas de 4 cm de 76 plantas de una población F2 procedente de una hibridación entre una línea de lechuga cabeza de mantequilla (no multihojas) y la línea N° 5338 (multihojas)

Clase: Peso de la cabeza/ Número de hojas > 4 cm	Número de plantas
< 3,0	0
3,0-3,5	8
3,5-4,0	2
4,0-4,5	5
4,5-5,0	2
5,0-5,5	2
5,5-6,0	2
6,0-6,5	0
6,5-7,0	1
7,0-7,5	5
7,5-8,0	11
8,0-8,5	16
8,5-9,0	12
9,0-9,5	8
9,5-10,0	2
>10	0
Total	76

5

La Tabla 2 muestra que el número de hojas más largas de 4 cm por planta, tiene una distribución continua con un pico de 50-60 hojas más largas de 4 cm por planta y con 17 plantas que tienen más de 90 hojas más largas de 4 cm. Estas últimas 17 plantas fueron todas de tipo multihojas. El hecho de que no se obtuviera una segregación discontinua de la característica multihojas puede ser debido a que las plantas difieren mutuamente en el tamaño y peso de la planta. El peso medio de la cabeza de las plantas de F2 varió de 350 a 655 g. Por contraste el número de hojas por planta, el cociente de peso de la cabeza y número de hojas da una distribución discontinua, con 21 plantas que tienen un cociente menor de 6,0 (todas de tipo multihojas) y 55 plantas que tienen un cociente mayor de 6,5 (todas de tipo normal). La segregación corresponde a una herencia monogénica recesiva de la característica multihojas.

10

15

Dentro del grupo de plantas del tipo multihojas se encontró una segregación adicional, lo que indica que el grado en que una planta tiene la característica multihojas está determinado también por otros genes. Esto se confirma también por el hecho de que fue posible, partiendo de la línea N° 5338 (una media de 139 hojas más largas de 4 cm, véase la Tabla 1), obtener una línea mediante hibridación y selección específica que tiene una media de 275 hojas más largas de 4 cm (RZ 97.41561, véase la Tabla 1).

20

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Una planta de lechuga multihojas del género *Lactuca* de un tipo particular que tiene la característica multihojas monogénica recesiva heredable, tal planta se puede obtener mediante cruce convencional, utilizando una planta de la línea RZ 97.41561 que tiene el número NCIMB 40877 de acceso al depósito y una segunda planta, teniendo dicha planta multihojas al menos 1,5 veces más hojas en la etapa de la recolección que una planta de lechuga del mismo tipo e igual peso de planta.
2. Una planta de lechuga según la reivindicación 1, que tiene al menos dos veces más hojas.
3. Una planta de lechuga según la reivindicación 1 ó 2, que tiene al menos 2,5 veces más hojas.
4. Una planta de lechuga según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, que tiene al menos 200 hojas.
- 10 5. Una planta de lechuga según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, que es del tipo de lechuga cabeza de mantequilla.
- 15 6. Semillas de lechuga multihojas de una planta de lechuga según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, tales semillas son capaces de convertirse en una planta que tiene al menos 1,5 veces más hojas en la etapa de la recolección y un determinado peso de la cabeza comparada con una planta de lechuga no multihojas del mismo tipo, provocado por la característica multihojas monogénica recesiva heredable.
7. La cabeza de una planta de lechuga multihojas según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, o como se obtiene a partir de las semillas según la reivindicación 6.
8. La cabeza de lechuga según la reivindicación 7, caracterizada por que el tipo de lechuga es la lechuga cabeza de mantequilla.

20



FIG.1

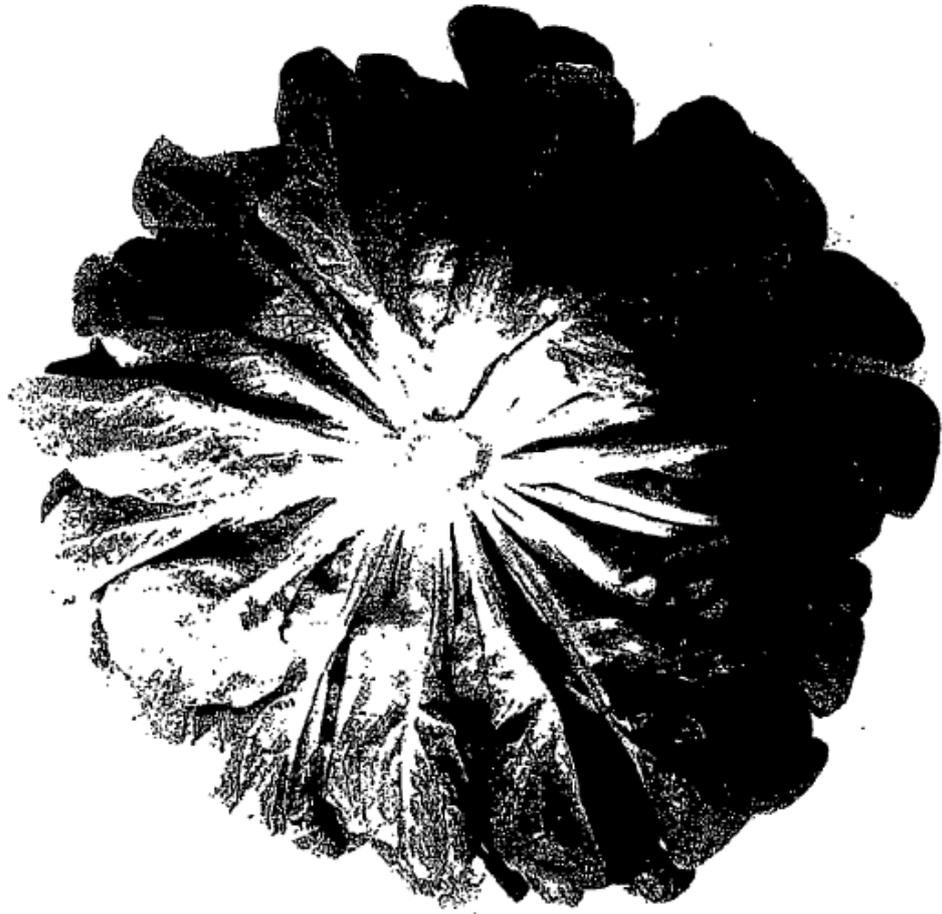


FIG.2

FIG.3

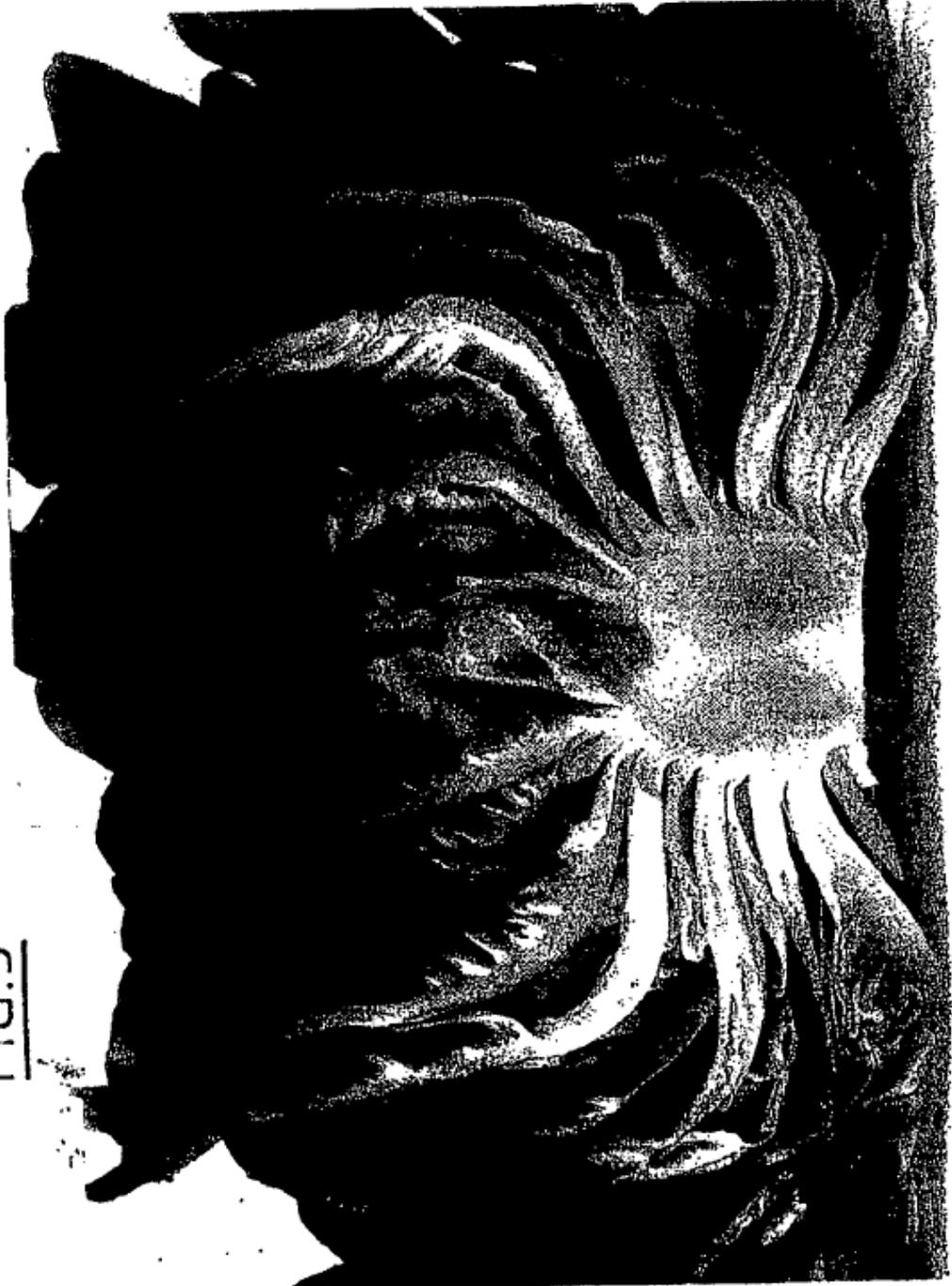


FIG. 4



FIG.5



FIG.6



FIG.7

