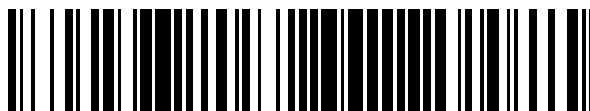


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 568 897**

51 Int. Cl.:

A01H 5/00 (2006.01)

A01H 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.02.2003** **E 03744126 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.02.2016** **EP 1487256**

54 Título: **Polinizador mejorado y método para incrementar el rendimiento de sandías sin semillas**

30 Prioridad:

05.03.2002 US 91154
22.01.2003 US 349509

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
05.05.2016

73 Titular/es:

SYNGENTA PARTICIPATIONS AG (100.0%)
SCHWARZWALDALLEE 215
4058 BASEL, CH

72 Inventor/es:

ZHANG, XINGPING y
WILLIAMS, TOM, VARE

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 568 897 T3

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

DESCRIPCIÓN

Polinizador mejorado y método para incrementar el rendimiento de sandías sin semillas.

Esta invención está dentro del campo de la cría de sandías, refiriéndose específicamente a sandías diploides usadas para polinizar plantas de sandía triploides para la producción comercial de frutos de sandía sin semillas, e incluye un nuevo método para la producción de frutos de sandía triploide.

La sandía es un importante cultivo hortícola que representa el 2% de la superficie mundial dedicada a cultivos vegetales. Había 2.437.826 ha (6.024.000 acres) de sandía cultivada en el mundo y 75.676 ha (187.000 acres) de sandías cultivadas en los Estados Unidos en 1997 (FAO Production Yearbook 51, 1998). El valor anual estimado de las sandías en el mundo superaba 7.600 millones \$ cuando se usaba en precio medio en los Estados Unidos durante 1995-1997. El cultivo de sandías en los Estados Unidos ascendió a 2,1 millones de toneladas (41 millones de cwt), de más de 70.415 ha (174.000 acres) recolectados, y un valor de las granjas de más 266 millones \$, que representaban 9,2% de las hectáreas recolectadas, 10,0% de la producción y 3,5% del valor de la industria de los vegetales frescos en los Estados Unidos en 1999 (USDA Agricultural Statistics 2001). California era el primer estado en valor de salida de explotaciones de sandías, superaba 72 millones de \$ en 2000, debido al alto porcentaje de sandías triploides sin semillas cultivadas en California. La sandía sin semillas tiene en el mercado un precio medio muy superior al de las sandías con semillas.

El objetivo de la cría de sandías es combinar en una sola variedad o híbrido diversos rasgos deseables. Rasgos deseables pueden incluir resistencia a enfermedades e insectos, tolerancia a calor y sequía, reducción del tiempo hasta la madurez del cultivo, mayor rendimiento y mejor calidad agrónoma. Con la recolección mecánica de muchos cultivos, son importantes la uniformidad de características de las plantas tales como germinación y posición erguida, velocidad de crecimiento, y madurez. Otros rasgos deseados incluyen el contenido de nutrientes particular, el color, la forma de la fruta, así como las características de sabor.

Como muchas plantas diferentes, la sandía contiene una parte de fruta y una parte de planta. Cada parte contiene diferentes rasgos que son deseados por los consumidores y/o los productores, incluyendo rasgos tales como el sabor, la textura, la resistencia a enfermedades y rasgos de apariencia tales como forma y color. El rasgo de ausencia de semillas en el fruto de la sandía es muy deseado por los consumidores. Para la producción de sandías sin semillas, se desean características de polinización óptimas de la planta polinizadora.

Las plantas de sandía sin semillas son triploides y deben ser polinizadas por el polen de plantas de sandía diploides. Para proporcionar una polinización adecuada de plantas de sandía sin semillas, la práctica normal es plantar plantas polinizadoras diploides sobre aproximadamente 25-33% de la superficie del campo. La porción restante del campo está plantada con las plantas triploides. Así, para maximizar el valor del cultivo en el campo, los productores usan variedades de sandía diploides comercializables de alto rendimiento, que finalmente compiten con las variedades triploides sin semillas por el sol, los nutrientes y el espacio.

Se ha divulgado un polinizador para sandía sin semillas que produce frutos pequeños y no comercializables, que no se recolectan (documento WO00/70933). Sin embargo, cuando se usa este polinizador, se observa un rendimiento total inferior de frutos comercializables en comparación con una línea polinizadora comercial. Además, los frutos del polinizador descrito en el documento WO00/70933 que no se recolectan se convierten en hospedantes para enfermedades en el futuro, y sus semillas germinarán y crecerán como malas hierbas, reduciendo así los rendimientos futuros.

La presente invención reconoce la necesidad de incrementar el rendimiento de la sandía sin semillas, preferiblemente sin pérdida en los rendimientos totales de frutos comercializables. La presente invención también reconoce que se necesitan nuevas características fenotípicas de las plantas polinizadoras diploides para permitir que estos diploides se planten muy cerca de las plantas triploides y compartan la superficie del campo con las plantas triploides, disminuyendo eficazmente de ese modo la superficie del campo requerida para los polinizadores diploides de la invención. La presente invención también reconoce la necesidad de minimizar la persistencia de frutos polinizadores no recolectados como malas hierbas hasta la estación posterior. La presente invención también reconoce la necesidad de incrementar la capacidad polinizadora de plantas de sandía diploides a fin de disminuir adicionalmente la relación de plantas diploides a triploides en el campo, incrementando además de ese modo el rendimiento de la sandía sin semillas. La presente invención también reconoce adicionalmente las necesidades de permitir que los agricultores distingan los frutos sin semillas de los frutos del polinizador en el campo y proporcionar un valor comercializable a los propios frutos del polinizador.

La presente invención se refiere al uso de una planta de sandía diploide que comprende un gen e como polinizador para plantas de sandía triploides en un procedimiento para producir frutos de sandía triploide sin semillas, en donde los frutos de la planta de sandía triploide tienen un intervalo de tamaño de 0,9 y 3,2 kg y la cáscara del fruto es frágil, rompiéndose bajo una presión en el intervalo de 90 a 150 g/mm².

En una realización específica, la planta de sandía diploide se planta en un campo de planta de sandía triploide y se recolectan dichos frutos de sandía triploide sin semillas.

En otra realización específica, los frutos no recolectados de la planta de sandía diploide se eliminan de la reproducción adicional a través de supresión de cultivos convencional tal como escarificación y arado.

La invención se refiere además a un método para producir frutos de sandía triploide sin semillas, que comprende las etapas de:

- 5 a) plantar un campo con hileras de plantas de sandía triploides;
- b) plantar dicho campo con hileras de plantas de sandía diploides que comprende un gen *e* y frutos pequeños con un intervalo de tamaño de entre 0,9 y 3,2 kg con una cáscara frágil que se rompe bajo una presión en el intervalo de 90 a 150 g/mm²; y
- 10 c) permitir la polinización de dichas plantas de sandía triploides con polen de dichas plantas de sandía diploides para obtener frutos de sandía triploide sin semillas.

En otra realización, la invención proporciona un método para incrementar el rendimiento de plantas de sandía triploides sin semillas, en donde el método comprende las etapas de:

- 15 a) obtener plantas de sandía diploides para polinizar dichas plantas de sandía triploides sin semillas, plantas de sandía diploides que comprenden un gen *e* y frutos pequeños con un intervalo de tamaño de entre 0,9 y 3,2 kg con una cáscara frágil que se rompe bajo una presión en el intervalo de 90 a 150 g/mm²;
- b) plantar dichas plantas de sandía diploides en un campo de plantas de sandía triploides;
- c) permitir la polinización de dichas plantas de sandía triploides con polen de dichas plantas de sandía diploides para obtener frutos de sandía triploide sin semillas; y
- d) recolectar dichos frutos de sandía triploide sin semillas; y, opcionalmente, la etapa adicional de
- 20 e) eliminar los frutos no recolectados de la planta de sandía diploide de la reproducción adicional a través de supresión de cultivos convencional tal como escarificación y arado.

La materia de la invención, para la que se busca protección, está definida en las reivindicaciones.

- 25 Cualquier referencia a la invención o a aspectos o realizaciones de la invención mencionada en la presente, que supere el alcance de la invención que está representado por las reivindicaciones, no forma parte de la invención sino que representa información anterior sólo útil para la comprensión de la invención.

La presente invención usa una nueva sandía diploide para mejorar los métodos actuales de producción comercial de sandía sin semillas y para incrementar el rendimiento de sandías sin semillas.

- 30 Se divulga en la presente una nueva sandía diploide polinizadora mejorada (en lo sucesivo denominada "polinizador mejorado") y un método para polinizar plantas de sandía sin semillas. El polinizador mejorado comprende, en la madurez, hojas pequeñas y tiene frutos frágiles. Las hojas pequeñas permiten que el polinizador mejorado se cultive muy cerca de las plantas de sandía triploides sin competir con ellas, incrementando de ese modo los rendimientos de frutos sin semillas. La fragilidad del fruto ofrece la ventaja de que los frutos no recolectados del polinizador se pueden destruir fácilmente a través de preparación de campos convencional para minimizar la persistencia como malas hierbas en los plantados futuros.

- 35 El polinizador mejorado comprende además preferiblemente enredaderas diáfanas muy ramificadas (también denominadas enredaderas abiertas muy ramificadas) y por lo tanto comprende preferiblemente un gran número de ramas abiertas (diáfanas). Las hojas del polinizador mejorado también comprenden preferiblemente lóbulos profundos no solapados. La apertura de la enredadera ramificada o diáfana resulta, en parte, de las distintas hojas de lóbulos profundos pequeñas y que no se solapan. Las ramas diáfanas y las hojas pequeñas, preferiblemente con lóbulos profundos no solapados, tienen la ventaja adicional de proporcionar más acceso de las abejas a las flores tanto de la planta polinizadora como triploide, mejorando de ese modo la transferencia del polen desde la sandía polinizadora mejorada a las flores femeninas de la sandía triploide. Un acceso más fácil de las abejas a las flores masculinas del polinizador mejorado y acoplado con una mayor frecuencia de flores masculinas proporciona una mayor fuente de polen para la producción de frutos triploides.
- 40

- 45 Una segunda ventaja de las hojas pequeñas, preferiblemente caracterizadas por lóbulos no solapados profundos, es que puede penetrar más luz solar hacia las plantas triploides adyacentes. Una tercera ventaja de las hojas pequeñas, preferiblemente caracterizadas por lóbulos no solapados profundos, es que estas hojas ocupan menos superficie del campo que las hojas sustancialmente mayores de los polinizadores diploides actualmente usados en

la producción de sandía sin semillas. Así, como es menos competitivo por la luz, el agua y los fertilizantes, el polinizador mejorado también puede crecer más cerca de las plantas triploides, y no necesita dedicar espacio para crecer. Cuando se usan el polinizador mejorado y el método de la presente invención, las sandías triploides sin semillas se cultivan preferiblemente en hileras sólidas con una separación estándar, a continuación plantándose intercaladamente el polinizador mejorado entre las plantas dentro de las hileras. Esto da como resultado números significativamente superiores de plantas triploides por hectárea en comparación con los números de plantas de sandía triploides que se han plantado tradicionalmente, y rendimientos superiores de frutos sin semillas.

Preferiblemente, los frutos del polinizador mejorado son pequeños y por lo tanto más fáciles de distinguir de los frutos sin semillas en el campo. Por lo tanto, se proporciona un nuevo polinizador mejorado que comprende frutos pequeños con cáscara frágil. Los frutos pequeños con cáscara frágil también reducen la carga de la planta y permiten que la planta continúe floreciendo durante períodos de tiempo prolongados, significativamente mayores que las sandías polinizadoras que se usan actualmente en la producción de sandías sin semillas. La duración de floración más prolongada del polinizador mejorado, en comparación con sandías diploides polinizadoras tradicionales, da como resultado un incremento del cuajado de los frutos y el rendimiento de las sandías sin semillas. La cáscara frágil también ofrece la ventaja de que los frutos no recolectados del polinizador se descomponen rápidamente en los campos, y se pueden eliminar fácilmente de la reproducción adicional a través de supresión de cultivos convencional (escarificación y arado).

Una ventaja adicional del polinizador mejorado es además que sus frutos contienen cantidades muy grandes de semillas, que se pueden recolectar y vender como semillas de sandía comestibles para usos como alimento o pienso, o para el uso en medicamentos. Esto proporciona un valor adicional al productor que puede recolectar y comercializar los frutos del polinizador mejorado como tales o sus semillas.

También se divulga en la presente un fruto del polinizador mejorado que pesa aproximadamente en el intervalo de alrededor de 0,9 a 3,2 kg (2 a 7 libras), preferiblemente de alrededor de 0,91 a alrededor de 2,7 kg (alrededor de 2 a alrededor de 6 libras), de alrededor de 0,91 a alrededor de 2,3 kg (alrededor de 2 a alrededor de 5 libras). El peso medio de los frutos del polinizador mejorado es preferiblemente alrededor de 1,4 kg (alrededor de 3,2 libras).

También se divulga una cáscara del fruto del polinizador mejorado que es frágil, rompiéndose bajo una presión preferiblemente aproximadamente en el intervalo de alrededor de 0,49 a alrededor de 0,77 kg/cm² (alrededor de 7 a alrededor de 11 libras/pulgada²). En particular, una cáscara del fruto del polinizador mejorado se rompe bajo una presión aproximadamente en el intervalo de alrededor de 90 a alrededor de 150 g/mm², preferiblemente de alrededor de 100 a alrededor de 148 g/mm², preferiblemente de alrededor de 110 a alrededor de 145 g/mm², preferiblemente de alrededor de 120 a alrededor de 140 g/mm².

También se divulga en la presente un polinizador mejorado que tiene hojas con una superficie aproximadamente en el intervalo de alrededor de 20 a alrededor de 70 cm², preferiblemente de alrededor de 22,5 a alrededor de 50 cm², preferiblemente de alrededor de 25 a alrededor de 40 cm². En otra realización preferida, la superficie foliar media de las hojas del polinizador mejorado es aproximadamente de alrededor de 25 a alrededor de 40 cm², preferiblemente de alrededor de 27,5 a alrededor de 37,5 cm², preferiblemente de alrededor de 30 a alrededor de 35 cm².

También se divulga una planta de polinizador mejorado para polinizar plantas triploides que producen frutos de sandía sin semillas, que comprende, en la madurez, las características de un tamaño de hoja menor en comparación con la variedad de sandía Sangria™, en donde la cáscara del fruto es más frágil que la cáscara de la variedad Sangria™ (una variedad comercial de Syngenta Seeds, Inc.). Además, el polinizador mejorado comprende preferiblemente frutos pequeños. Las hojas del polinizador mejorado comprenden lóbulos profundos no solapados.

La sandía diploide polinizadora se puede mejorar adicionalmente al incluir resistencia a diversas plagas y herbicidas a través de métodos de cría de plantas convencionales o transformación genética.

También se divulga en la presente un método para plantar intercaladamente plantas del polinizador mejorado entre las plantas de sandía triploides en un campo en un patrón que disminuya la relación de plantas polinizadoras a plantas triploides e incremente la superficie de campo para las plantas triploides. Esto permite una población de plantas triploides mayor que en la práctica convencional, y da como resultado un rendimiento 25-33% superior de frutos sin semillas.

También se divulga en la presente un método para incrementar el rendimiento de sandía triploide sin semillas que comprende las etapas de reducir la carga de frutos de dicha sandía polinizadora mejorada, incrementar la duración de floración de dicha sandía polinizadora, plantar dicha sandía polinizadora mejorada en un campo de sandía triploide; y recolectar dicha sandía triploide.

La invención también proporciona un método para incrementar el rendimiento de plantas de sandía triploides sin semillas al usar plantas de sandía polinizadoras mejoradas, preferiblemente con frutos pequeños, en donde los frutos como tales no se recolectan para consumo humano. Preferiblemente, las semillas de los frutos del polinizador mejorado se usan como alimento o pienso, o en medicamentos.

También se divulga en la presente un método para producir un polinizador mejorado, que comprende cruzar una primera planta de sandía que tiene hojas pequeñas con una segunda planta de sandía que produce frutos con cáscara frágil que se abre fácilmente y seleccionar una planta de sandía que tenga las características del polinizador mejorado divulgadas en la presente. Preferiblemente, la primera planta de sandía comprende además las características de una enredadera diáfana muy ramificada. Preferiblemente, las hojas del polinizador mejorado comprenden preferiblemente lóbulos no solapados profundos. Preferiblemente, la primera planta de sandía tiene las características de OW824 divulgadas en la presente. Preferiblemente, la segunda planta de sandía tiene frutos pequeños. Preferiblemente, la segunda planta de sandía tiene las características de OW823 divulgadas en la presente. En particular, la primera planta de sandía es OW824. En particular, la segunda planta de sandía es OW823. En particular, la primera planta de sandía es OW824 y la segunda planta de sandía es OW823. Preferiblemente, el método comprende además fijar los rasgos del polinizador mejorado.

Se describen adicionalmente en la presente:

Una planta de sandía que comprende, en la madurez, hojas que tienen una superficie en el intervalo de alrededor de 20 a alrededor de 70 cm² y que tiene frutos que se rompen bajo una presión en el intervalo de alrededor de 90 a alrededor de 150 g/mm². Preferiblemente, dichas hojas tienen una superficie en el intervalo de alrededor de 22,5 a alrededor de 50 cm², preferiblemente en el intervalo de alrededor de 25 a alrededor de 40 cm². Preferiblemente, dichos frutos se rompen bajo una presión en el intervalo de alrededor de 100 a alrededor de 148 g/mm², preferiblemente en el intervalo de alrededor de 110 a alrededor de 145 g/mm², preferiblemente en el intervalo de alrededor de 120 a alrededor de 140 g/mm². Preferiblemente, dichas hojas se caracterizan por lóbulos foliares profundos no solapados. Preferiblemente, dicha planta de sandía comprende, en la madurez, enredaderas muy ramificadas. Preferiblemente, dichos frutos pesan en el intervalo de alrededor de 0,9 a alrededor de 3,2 kg (alrededor de 2 a alrededor de 7 libras).

El polen, los óvulos, los frutos, las semillas de las plantas anteriores.

La progenie de las plantas anteriores obtenida de modo generativo o vegetativo, en donde dicha progenie retiene las características indicadas anteriormente.

Se describen adicionalmente en la presente:

Una planta de sandía diploide que comprende las características de un tamaño de hoja menor en comparación con la variedad de sandía Sangria™, en donde dicha corteza del fruto es más frágil que la corteza de la variedad Sangria™. Preferiblemente, dichas hojas tienen una superficie en el intervalo de alrededor de 20 a alrededor de 70 cm², preferiblemente en el intervalo de alrededor de 22,5 a alrededor de 50 cm², preferiblemente en el intervalo de alrededor de 25 a alrededor de 40 cm². Preferiblemente, dichos frutos se rompen bajo una presión en el intervalo de alrededor de 90 a alrededor de 150 g/mm², preferiblemente en el intervalo de alrededor de 100 a alrededor de 148 g/mm², preferiblemente en el intervalo de alrededor de 110 a alrededor de 145 g/mm², preferiblemente en el intervalo de alrededor de 120 a alrededor de 140 g/mm². Preferiblemente, dichas hojas se caracterizan por lóbulos foliares profundos no solapados. Preferiblemente, dicha planta comprende además enredaderas muy ramificadas. Preferiblemente, dichos frutos pesan en el intervalo de alrededor de 0,9 a alrededor de 3,2 kg (alrededor de 2 a alrededor de 7 libras).

El polen, los óvulos, los frutos, las semillas de las plantas anteriores.

La progenie de las plantas anteriores obtenida de modo generativo o vegetativo, en donde dicha progenie retiene las características indicadas anteriormente.

Se describen adicionalmente en la presente:

Una planta de sandía que comprende, en la madurez, hojas con una superficie media en el intervalo de alrededor de 25 a alrededor de 40 cm² y que tienen frutos que se rompen bajo una presión en el intervalo de alrededor de 90 a alrededor de 150 g/mm². Preferiblemente, dichas hojas tienen una superficie media en el intervalo de alrededor de 27,5 a alrededor de 37,5 cm², preferiblemente en el intervalo de alrededor de 30 a alrededor de 35 cm². Preferiblemente, dichos frutos se rompen bajo una presión en el intervalo de alrededor de 100 a alrededor de 148 g/mm², preferiblemente en el intervalo de alrededor de 110 a alrededor de 145 g/mm², preferiblemente en el intervalo de alrededor de 120 a alrededor de 140 g/mm². Preferiblemente, dichas hojas se caracterizan por lóbulos foliares profundos no solapados. Preferiblemente, dicha planta comprende además, en la madurez, enredaderas muy ramificadas. Preferiblemente, dichos frutos pesan en el intervalo de alrededor de 0,9 a alrededor de 3,2 kg (alrededor de 2 a alrededor de 7 libras).

El polen, los óvulos, los frutos, las semillas de las plantas anteriores.

La progenie de las plantas anteriores obtenida de modo generativo o vegetativo, en donde dicha progenie retiene las características indicadas anteriormente.

Se describen adicionalmente en la presente:

Una planta de sandía obtenible mediante un método que comprende las etapas de a) cruzar una planta de sandía con una planta de NO1F3203B depositada con el N° de Registro PTA-4856, b) obtener una planta descendiente, c) seleccionar dicha planta descendiente con respecto a las características de un polinizador de la presente invención, preferiblemente hojas pequeñas y fruto frágil, preferiblemente las características divulgadas anteriormente. En una realización preferida, la planta se selecciona adicionalmente con respecto a enredaderas diáfanas muy ramificadas, preferiblemente con respecto a frutos pequeños. En una realización preferida, el método comprende adicionalmente cruzar dicha progenie bien consigo misma o bien con una planta de NO1F3203B, o con otro polinizador mejorado, y seleccionar con respecto a dichas características del polinizador mejorado. Preferiblemente, el método comprende adicionalmente fijar los rasgos del polinizador mejorado.

Se describen adicionalmente en la presente:

Un método para producir frutos de sandía triploide sin semillas que comprende las etapas de: a) plantar un campo con hileras de plantas de sandía triploides separadas de forma aproximadamente uniforme; b) plantar intercaladamente plantas de sandía diploides polinizadoras dentro de dichas hileras de plantas de sandía triploides separadas de forma aproximadamente uniforme después de cada 2^a, 3^a, 4^a, 5^a, 6^a, 7^a, 8^a, 9^a o 10^a plantas triploides; c) recolectar dichos frutos de sandía triploide sin semillas. Preferiblemente, dicha planta de sandía polinizadora diploide es una planta de sandía como la divulgada anteriormente.

Se describen adicionalmente en la presente:

Un método para producir frutos de sandía triploide sin semillas que comprende las etapas de: a) plantar un campo con hileras de plantas de sandía triploides; b) plantar dicho campo con hileras de plantas de sandía diploides, en donde las hileras de plantas de sandía diploides tienen una anchura de aproximadamente un tercio a la mitad de las hileras de triploides. Preferiblemente, las hileras de plantas de sandía diploides tienen una anchura de aproximadamente la mitad a dos tercios de la anchura de las hileras de triploides. Preferiblemente, el método comprende adicionalmente la etapa de plantar dichas hileras de plantas de sandía diploides después de cada dos hileras de triploides, después de cada tres hileras de triploides o después de cada cuatro hileras de triploides. Preferiblemente, dicha planta de sandía polinizadora diploide es una planta de sandía divulgada anteriormente.

Se describen adicionalmente en la presente:

Un método para incrementar el rendimiento de plantas de sandía triploides que comprende las etapas de

a) obtener una planta de sandía polinizadora para polinizar dichas plantas de sandía triploides, teniendo dicha sandía polinizadora las características de:

- i) reducción de la carga de frutos;
- ii) disminución del tamaño de las hojas;
- iii) incremento de la duración de la floración;

b) plantar dicha planta de sandía polinizadora en un campo de plantas de sandía triploides; y

c) recolectar dicha sandía triploide.

Preferiblemente, dicha planta de sandía polinizadora está en una relación de aproximadamente igual a o menos de 1 planta de sandía polinizadora a 2 plantas de sandía triploides. Preferiblemente, dicha planta de sandía polinizadora está en una relación de aproximadamente igual a o menos de 1 planta de sandía polinizadora a 4 plantas de sandía triploides.

Se describen adicionalmente en la presente:

Un método para producir plantas de sandía polinizadoras diploides que comprende a) cruzar una primera planta de sandía que tiene hojas pequeñas con una segunda planta de sandía que produce frutos con cáscara frágil; y b) seleccionar plantas de sandía polinizadoras diploides que tienen hojas pequeñas y que producen frutos con cáscara frágil. Preferiblemente, las hojas de dicha primera planta de sandía tienen lóbulos foliares profundos no solapados. Preferiblemente, la sandía polinizadora diploide comprende, en la madurez, enredaderas muy ramificadas. Preferiblemente, las hojas de dicha primera planta de sandía tienen una superficie aproximadamente en el intervalo de alrededor de 20 a alrededor de 70 cm², preferiblemente en el intervalo de alrededor de 22,5 a alrededor de 50

cm², preferiblemente en el intervalo de alrededor de 25 a alrededor de 40 cm². Preferiblemente, los frutos de dicha segunda planta de sandía se rompen bajo una presión aproximadamente en el intervalo de alrededor de 90 a alrededor de 150 g/mm², preferiblemente en el intervalo de alrededor de 100 a alrededor de 148 g/mm², preferiblemente en el intervalo de alrededor de 110 a alrededor de 145 g/mm², preferiblemente en el intervalo de alrededor de 120 a alrededor de 140 g/mm². Preferiblemente, dichos frutos pesan en el intervalo de alrededor de 0,9 a alrededor de 3,2 kg (alrededor de 2 a alrededor de 7 libras).

Una planta de sandía diploide para polinizar plantas obtenidas mediante un método divulgado anteriormente.

Se describen adicionalmente en la presente:

Un método para producir plantas de sandía polinizadoras diploides que comprende las etapas de desarrollar una planta de sandía polinizadora diploide al incrementar la fragilidad de los frutos de dicha planta de sandía polinizadora.

Desarrollo de sandías sin semillas

Se crean sandías triploides al cruzar una línea parental femenina tetraploide (4X) con una línea parental masculina diploide (2X). Las semillas de sandía triploide (3X) resultantes se plantan en un campo con polinizadores de sandía diploide. Los frutos resultantes de la sandía triploide no tienen semillas.

Para crear una línea de sandía femenina tetraploide, se conoce en la técnica el uso de productos químicos que alteran la mitosis de una línea endogámica diploide de modo que se obtienen números de cromosomas inusuales. Por ejemplo, la colquicina es un producto químico que altera las fibras del huso mitótico de células diploides dando como resultado un número de células que son tetraploides. La línea diploide usada para crear un tetraploide se selecciona basándose en los rasgos deseados para la línea tetraploide. Por lo tanto, los rasgos que se desean para una línea tetraploide se pueden introgresar en primer lugar en las líneas endogámicas diploides que se usarán para desarrollar las líneas tetraploides mediante métodos de cría muy conocidos por los expertos en la técnica. Así, las líneas parentales diploide y tetraploide se crían separadamente con respecto a los rasgos deseados.

Habitualmente, esto requiere al menos dos generaciones de autopolinización y selección para "fijar" la condición 4X, después de la generación del tratamiento con colquicina debido a que, a menudo, se encuentran aberraciones cromosómicas que afectan a la fertilidad de las semillas, y se deben eliminar. Una vez que se verifica el tetraploide estable que contiene las características deseadas, se puede usar a continuación como un progenitor femenino estable para la producción del híbrido triploide. Se selecciona una línea endogámica diploide estable para el uso como el progenitor masculino. Métodos para desarrollar plantas tetraploides se describen en Kihara, H., 1951, Triploid Watermelons, *Proceedings of American Society for Horticultural Science* 58:217-230; y Eigsti, O.J., 1971, Seedless Triploids, *HortScience* 6, págs. 1-2.

La línea progenitora femenina tetraploide y la línea progenitora masculina diploide se plantan en un campo de producción de semillas. El polen del progenitor masculino diploide se transfiere a la flor tetraploide femenina mediante métodos muy conocidos por los expertos en la técnica. La semilla triploide que se produce está presente en el fruto resultante y se planta para producir plantas triploides. La cría de sandías se describe adicionalmente en Mark Bassett (Editor), 1986, *Breeding Vegetable Crops*, AVI Publishing, ISBN 0-87055-499-9.

Una sandía sin semillas triploide es un híbrido F1 verdadero entre una sandía tetraploide, como el progenitor femenino, y una sandía diploide, como el progenitor masculino (Kihara, H. 1951. Triploid Watermelons. *Proceedings of American Society for Horticultural Science* 58:217-230). La condición de ausencia de semillas en la sandía triploide es el resultado de la presencia de tres grupos homólogos de cromosomas por célula somática en lugar de los dos habituales. Se dice que las células con tres grupos de cromosomas homólogos son triploides y se indican como 3X. Las sandías triploides sin semillas tienen 33 cromosomas ($2N = 3X = 33$) en sus células somáticas. La incapacidad del cigoto triploide para producir gametos viables normales (polen y células huevo) provoca la ausencia de semillas en los frutos triploides. Típicamente, las sandías sin semillas contienen óvulos blancos comestibles pequeños, similares a los de pepinos inmaduros.

El suministro de polen viable adecuado procedente de la sandía polinizadora diploide es esencial para que las flores femeninas triploides cuajen y se desarrollen como frutos sin semillas normales. Las flores femeninas de sandía triploide no cuajarán si no se polinizan con polen viable de sandía diploide. (Maynard, D.N. (editor), 2001, *Watermelons: Characteristics, Production and Marketing*, ASHS Press, ISBN 0-9707546-1-2). La sandía diploide cultivada en un campo de plantas triploides se denomina el "polinizador". En los actuales campos de producción de sandías triploides comerciales, la sandía triploide y el polinizador diploide se plantan intercaladamente, bien dentro de la hilera o entre hileras, en una relación de aproximadamente 1 diploide a 2 o 3 triploides. Aunque la investigación ha indicado que una relación 1:4 es aceptable, raramente se usa en parcelas comerciales. (NeSmith, D.S., Duval, J.R. *Fruit Set of Triploid Watermelons as a Function of Distance from a Diploid Pollenizer*, *HortScience* 36(1): 60-61, 2001).

Desarrollo de sandía diploide polinizadora mejorada

Según la presente invención, se selecciona una sandía (OW824) que tiene las características de una enredadera diáfana muy ramificada, flores masculinas tempranas y prolíficas y hojas pequeñas con lóbulos foliares profundos no solapados. En este ejemplo, el fruto de OW824 es relativamente grande, la cáscara y la carne son muy firmes, el tamaño de las semillas es muy grande y la carne es blanca. OW824 es una variedad de sandía con semillas comestibles disponible públicamente generalmente denominada sandía con semillas comestibles XinJiang.

También según la invención, se selecciona una sandía híbrida (OW823) con respecto a su fruto pequeño (2 - 3 kg) con cáscara frágil que se abre fácilmente. OW823 también incluye las características de semillas de tamaño medio con carne amarilla y tiene hojas relativamente grandes. OW823 es una variedad disponible comercialmente, Tiny Orchid, de Known-You Seeds, Ltd. de Taiwán.

Cruzar OW824 X OW823 generó una progenie que tenía las características de la sandía diploide polinizadora mejorada de la presente invención según se describe con más detalle posteriormente.

El cruce inicial de OW824 X OW823 se realizó durante el verano de 2000 en California. La generación F₁ se cultivó en el invernadero en el otoño de 2000. La población F₂ se cultivó en Florida en primavera y en California en verano de 2001. Los individuos con el grupo de rasgos requerido para el polinizador mejorado se identificaron satisfactoriamente y se autopolinizaron en poblaciones F₂ cultivadas en ambos lugares. Se realizó un total de 7 selecciones. Las 7 líneas F₃ se cultivaron en el campo en Florida y en el invernadero en California en otoño de 2001 para la selección y evaluación adicional. Se identificaron tres líneas F₃ para cumplir mejor los objetivos de reproducción y avanzaron hasta la generación F₄. Todas tenían el grupo de rasgos requerido por el polinizador mejorado. Una línea, NO1F3203B, también llamada ahora SP1, se fija para cada rasgo implicado. NO1F3203B contiene los rasgos que son ilustrativos de los rasgos del polinizador mejorado de la invención. Otras líneas de polinizador mejorado con características similares eran, por ejemplo, SP2 con hojas ligeramente mayores que SP1, y SP3 con frutos ligeramente mayores que SP1 y un color diferente de la piel del fruto.

Hoja: Las hojas del polinizador mejorado son significativamente menores y son más numerosas que las de los polinizadores comúnmente usados tales como la variedad Sangria™. Las hojas del polinizador mejorado tienen preferiblemente una superficie aproximadamente en el intervalo de alrededor de 20 a alrededor de 70 cm², preferiblemente de alrededor de 22,5 a alrededor de 50 cm², preferiblemente de alrededor de 25 a alrededor de 40 cm². En otra realización preferida, la superficie foliar media de las hojas del polinizador mejorado es aproximadamente de alrededor de 25 a alrededor de 40 cm², preferiblemente de alrededor de 27,5 a alrededor de 37,5 cm², preferiblemente de alrededor de 30 a alrededor de 35 cm². Las hojas del polinizador mejorado tienen preferiblemente lóbulos foliares profundos no solapados.

Las superficies de las hojas del polinizador mejorado NO1F3203B y la Sangria™, un polinizador preferido por los productores, se muestran con propósitos de comparación en la Tabla 1. Las hojas tanto de NO1F3203B como de Sangria™ se tomaron de plantas maduras sembradas el 20 de agosto de 2001 y recolectadas el 8 de noviembre de 2001.

Tabla 1

HOJA DE NO1F3203B	cm ²	HOJA DE SANGRIA	cm ²	
A	38,75	A	232,00	
B	26,25	B	447,25	
C	39,75	C	241,50	
D	28,75	D	238,00	
E	38,25	E	211,00	
F	26,27			
	33,08 (±6,46)		273,95 (±97,60)	

La superficie de la hoja del polinizador mejorado de la invención es de aproximadamente 5 a 12 veces menor que la superficie del polinizador diploide típico, la planta de Sangria™.

Claramente, debido a diversas fuerzas ambientales y físicas, algunas de las hojas en una población de polinizador mejorado pueden tener algunos lóbulos solapados, pero los lóbulos solapados no son característicos del mismo. En contraste, la hoja de Sangria™ se caracteriza por tener lóbulos foliares que habitualmente se solapan entre sí. Las hojas pequeñas, profundamente lobuladas y no solapadas permiten más luz solar hacia las plantas de sandía triploides adyacentes.

Ramificación: Preferiblemente, el polinizador mejorado de la invención también está muy ramificado (también denominado "enredadera diáfana" o "enredadera abierta"), teniendo significativamente más ramas (media de 25,9) que la variedad denominada Sangria™ (media de 13). La característica de enredadera diáfana permite que el polinizador mejorado produzca flores masculinas más accesibles que los polinizadores diploides actuales, mejorando de ese modo la exposición de las flores a las abejas. Las enredaderas abiertas o diáfanas también permiten la plantación intercalada del polinizador mejorado entre plantas triploides, permitiendo de ese modo poblaciones triploides superiores y mayor producción de frutos sin semillas.

Fruto: La cáscara del fruto del polinizador mejorado es muy frágil y se rompe fácilmente. La cáscara frágil del fruto se abre fácilmente, debido a la maduración natural o al romper o abrir el fruto durante la recolección de la sandía triploide sin semillas (por ejemplo, por pisadas). La apertura del fruto indica a la planta que no ha completado su proceso reproductivo, induciendo a la planta a continuar floreciendo durante un período de tiempo más prolongado. La fragilidad es conferida por un gen e (cáscara explosiva, cáscara delgada y blanda, que estalla cuando se corta (Rhodes & Dane, 1999, *Gene List for Watermelon*, Cucurbit Genetics Cooperative Report 22:71-77). Cuando se mide mediante un penetrómetro, la NO1F3203B se rompe a alrededor de 0,49-0,77 kg/cm² (7-11 libras/pulgada²), mientras que una sandía típica tal como Sangria™ se rompe a alrededor de 1,47-1,90 kg/cm² (21-27 libras/pulgada²). Usando un Tester FT02 de Wagner Instruments, Greenwich, CT 06836, el fruto del polinizador mejorado preferiblemente se rompe bajo una presión aproximadamente en el intervalo de alrededor de 90 a alrededor de 150 g/mm², preferiblemente de alrededor de 100 a alrededor de 148 g/mm², preferiblemente de alrededor de 110 a alrededor de 145 g/mm², preferiblemente de alrededor de 120 a alrededor de 140 g/mm². Para comparación, el fruto de Sangria™ se rompe bajo una presión de aproximadamente alrededor de 300 g/mm².

Preferiblemente, el tamaño del fruto del polinizador mejorado está aproximadamente en el intervalo de alrededor de 12,7 cm a alrededor de 17,8 cm de largo x alrededor de 15,2 a alrededor de 17,8 cm de ancho (de alrededor de 5 a alrededor de 7 pulgadas de largo x de alrededor de 6 a alrededor de 8 pulgadas de ancho). Preferiblemente, el tamaño del fruto del polinizador mejorado es aproximadamente de alrededor de 15,2 cm de largo x alrededor de 17,8 cm de largo (de alrededor de 6 pulgadas de largo x alrededor de 7 pulgadas de ancho), mientras que el polinizador típico es de alrededor de 21,4 cm de largo x 50,8 cm de ancho (alrededor de 10 pulgadas de largo x 20 pulgadas de ancho). El pequeño tamaño del fruto, así como su fragilidad, se seleccionó para disminuir la carga sobre la planta, extendiendo de ese modo la duración del crecimiento de las plantas y la producción de flores. Otra ventaja del pequeño tamaño del fruto es que permite al recolector distinguir fácilmente el fruto sin semillas del fruto con semillas, a menudo es difícil con los polinizadores usados actualmente, que se seleccionan basándose en su similitud global con las plantas triploides sin semillas. El fruto del polinizador mejorado pesa aproximadamente en el intervalo de alrededor de 0,9 a alrededor de 3,2 kg (de alrededor de 2 a alrededor de 7 libras), preferiblemente de alrededor de 0,9 a alrededor de 2,7 kg (de alrededor de 2 a alrededor de 6 libras), preferiblemente de alrededor de 0,9 a alrededor de 2,3 kg (de alrededor de 2 a alrededor de 5 libras). El peso medio de los frutos del polinizador mejorado está preferiblemente alrededor de 1,4 kg (alrededor de 3,2 libras).

El color de la cáscara del polinizador mejorado es preferiblemente verde claro con líneas verde oscuro muy delgadas. El fruto del polinizador mejorado de la invención se puede distinguir del fruto de la mayoría (alrededor de 99%) de las variedades de sandía sin semillas disponibles comercialmente.

Floración: Las plantas del polinizador mejorado, p. ej. de NO1F3203B, también florecen aproximadamente de 7 a 10 días antes que las plantas polinizadoras diploides actualmente usadas para la producción de sandía sin semillas, y continúan floreciendo durante la época de recolección de los frutos de la sandía sin semillas, de 2 a 3 semanas más que las plantas polinizadoras diploides estándar. Así, la planta polinizadora de la invención tiene una duración de floración que es de aproximadamente 3 a 5 semanas mayor que los polinizadores actualmente usados.

Otros rasgos: El polinizador mejorado, p. ej. NO1F3203B, se puede usar bien como donante del grupo de rasgos divulgados anteriormente o bien como el progenitor recurrente para desarrollar líneas de polinizador mejorado adicionales. Según la invención, la sandía polinizadora mejorada contiene rasgos de resistencia a enfermedades (p. ej. marchitado por Fusarium, antracnosis, añublo gomoso del tallo, mildiú polvoriento y manchado bacteriano de los frutos), resistencia a insectos (p. ej. escarabajo del pepino, áfidos, moscas blancas y ácaros), tolerancia a la sal, tolerancia al frío y/o resistencia a herbicidas añadida. Estos rasgos se pueden añadir a líneas existentes al usar bien un método de retrocruzamiento convencional, bien un método de cría selectiva o bien transformación genética. Los métodos de reproducción de sandías convencional se muestran en diversos libros de referencia, p. ej. Maynard, D.N. (editor), 2001, *WATERMELONS Characteristics, Production and Marketing*, ASHS Press; Mohr, H.C., *Watermelon Breeding*, en Mark J. Bassett (editor), 1986, *Breeding Vegetable Crops*, AVI Publishing Company, Inc. Métodos generales de transformación genética se pueden mostrar a partir de referencias publicadas, p. ej. Glich y cols., (Eds), 1993, *Methods in Plant Molecular Biology & Biotechnology*, CRC Press, y más específicamente para la sandía en el documento WO02/14523.

Formas del polinizador diploide mejorado: Una vez que se han desarrollado las líneas de polinizador mejorado, diversas formas de variedades de polinizador mejorado se pueden usar en la producción comercial de sandías sin semillas. Específicamente, estas formas de variedades de polinizador mejorado incluyen:

- 5 Formas del polinizador mejorado: (1) Variedad polinizada en abierto: Las líneas mejoradas estables del polinizador mejorado se cultivan en campos aislados, al menos a 2.000 metros de otras variedades de sandía. La polinización es efectuada por abejas en los campos abiertos. Las semillas se recolectan del campo de producción de semillas cuando el fruto y las semillas están totalmente desarrollados. Las semillas se secan y se procesan según procedimientos normales de recolección de semillas de sandía. (2) Variedad sintética: Las semillas de diferentes líneas de polinizador mejorado se producen individualmente en campos aislados. Se usa polinización por abejas en cada aislamiento. Las semillas de diferentes polinizadores mejorados se recolectan y se procesan separadamente. 10 Mezclar varias líneas de polinizador mejorado en diversas relaciones forman las variedades sintéticas. La variedad sintética puede proporcionar una población polinizadora más amplia para las sandías triploides. (3) Variedad híbrida polinizada en abierto: Dos o varias líneas de polinizador mejorado se plantan en el mismo campo de producción de semillas con polinización por abejas. El lote de semillas recolectadas, por lo tanto, contiene semillas tanto híbridas como endogámicas. (4) Variedad híbrida: Dos líneas de polinizador mejorado, los progenitores masculino y 15 femenino, se plantan en el mismo campo. Se efectúa polinización a mano. Solo se recolectan las semillas de la línea parental femenina y se venden al productor comercial para el uso como polinizador. La Tabla 3 del Ejemplo 7 muestra los resultados obtenidos usando diversas combinaciones de polinizadores mejorados endogámicos e híbridos.
- 20 Método de producción de sandías sin semillas: La mayoría de los productores comerciales actuales de sandías sin semillas en el NAFTA usan variedades diploides alargadas con un patrón rayado Allsweet: piel verde clara con rayas verde oscuro, como el polinizador. La variedad denominada Sangria™ es el polinizador de tipo Allsweet más preferido y está disponible como un producto comercial de Syngenta Seeds, Inc., Boise Idaho. Típicamente, el polinizador se planta intercaladamente con la sandía triploide bien entre hileras o bien dentro de la hilera. El método 25 actual para plantar polinizadores diploides incluye plantar las plantas diploides a una distancia del triploide adyacente tal que tengan la misma superficie de campo disponible por planta que la superficie de campo que está disponible para las plantas de sandía triploides. Por ejemplo, actualmente, los productores de sandías plantan intercaladamente los diploides dentro de una hilera, con lo que la separación entre todas las plantas adyacentes dentro de la hilera es aproximadamente equidistante.
- 30 Alternativamente, las plantas polinizadoras diploides se plantan en hileras separadas entre hileras de plantas de sandía triploides. Todas las hileras de plantas diploides y triploides de tal campo se plantan aproximadamente equidistantes entre sí. En otras palabras, bajo los métodos actuales para producir sandía sin semillas, la anchura de todas las hileras de diploides y triploides es la misma.
- 35 El método de la presente invención incluye plantar las plantas de sandía polinizadora mejorada en hileras que son más estrechas que las hileras de triploides, ahorrando de ese modo superficie de campo para la producción de sandía triploide sin semillas.

La Tabla 2 posterior muestra diferentes alternativas de plantado para un polinizador de sandía, incluyendo un plantado intercalado preferido según la presente invención (columna derecha).

Tabla 2

[illegible]

Ejemplos

Los siguientes Ejemplos se proporcionan para ilustrar la presente invención, y no se deben considerar limitativos de la misma

Ejemplo 1: Plantas de sandía triploides se plantan en hileras paralelas separadas 2,1 m (7 pies) y separadas 1,1 m (3 pies) dentro de cada hilera. Sin embargo, las plantas de sandía diploides mejoradas se plantan en una hilera estrecha de 1,1 m (3,5 pies) de ancho (1/2 de la anchura de las hileras de triploides) entre cada segunda y tercera hilera de triploides. Por ejemplo, las hileras A y B son dos hileras de triploides consecutivas, cada una de 2,1 m (7 pies) de ancho. La hilera C es una hilera de diploides que tiene 1,1 m (3,5 pies) de ancho. Las hileras D y E son las dos hileras siguientes de 2,1 m (7 pies) de ancho de triploides, seguido por la hilera F de 1,1 m (3,5 pies) de ancho de plantas diploides. Este patrón se repite a través de la anchura del campo. Debido a que la hilera de diploides es más estrecha según el método de la invención, la distancia entre las hileras B y D es de 3,2 m (10,5 pies) en lugar de la distancia tradicional de 4,3 m (14 pies). Usando esta relación de 1 hilera de polinizador para cada 2 hileras de triploide (1:2), normalmente se usaría 33,3% del campo para las plantas polinizadoras. Reduciendo a la mitad la anchura de la hilera del polinizador según el método de la invención, la ganancia de espacio para plantar plantas triploides adicionales sería $33,3\%/2$ o aproximadamente 17%.

Ejemplo 2: Plantas de sandía triploides se plantan de nuevo en hileras paralelas separadas 2,1 m (7 pies) y separadas 0,9 m (3 pies) dentro de cada hilera. Como en el Ejemplo 1, las plantas de sandía diploides mejoradas se plantan en una hilera de 1,1 m (3,5 pies de ancho), pero se plantan entre cada tercera y cuarta hilera de triploides. Por ejemplo, las hileras A, B y C son tres hileras de triploides consecutivas, teniendo cada hilera 2,1 m (7 pies) de ancho. La siguiente hilera D es una hilera de diploides que tiene 1,1 m (3,5 pies) de ancho. Las hileras E, F y G son las tres hileras siguientes de triploides, todas de 2,1 m (7 pies) de ancho, seguidas por una hilera de 1,1 m (3,5 pies) de ancho de plantas de polinizador mejorado. Este patrón se repite a través de la anchura del campo. Debido a que la hilera de diploides es más estrecha según el método de la invención, la distancia entre las hileras B y D es de 3,2 m (10,5 pies) en lugar de la distancia tradicional de 4,3 m (14 pies). Usando esta relación de 1 hilera de polinizador para cada 3 hileras de triploide (1:3), normalmente se usaría 25% del campo para las plantas polinizadoras. Reduciendo a la mitad la anchura de la hilera del polinizador según el método de la invención, la ganancia de espacio para plantar plantas triploides adicionales sería $25\%/2$ o aproximadamente 12%.

Ejemplo 3: Sandías triploides se plantan en hileras paralelas separadas 2,4 m (8 pies) y separadas 0,9 m (3 pies) dentro de cada hilera. Las plantas de sandía diploides mejoradas se plantan en una hilera estrecha de 1,2 m (4,0 pies) de ancho (1/2 de la anchura de las hileras de triploides) entre cada segunda y tercera hilera de triploides. Por ejemplo, las hileras A y B son dos hileras de triploides consecutivas, cada una de 2,4 m (8 pies) de ancho. La hilera C es una hilera de diploides que tiene 1,2 m (4,0 pies) de ancho. Las hileras D y E son las dos hileras siguientes de 2,4 m (8 pies) de ancho de triploides, seguidas por la hilera F de 1,2 m (4,0 pies) de ancho de plantas diploides. Este patrón se repite a través de la anchura del campo. Debido a que la hilera de diploides es más estrecha según el método de la invención, la distancia entre las hileras B y D es de 3,6 m (12,0 pies) en lugar de la distancia tradicional de 4,9 m (16 pies). Usando esta relación de 1 hilera de polinizador para cada 2 hileras de triploides (1:2), normalmente se usaría 33,3% del campo para las plantas polinizadoras. Reduciendo a la mitad la anchura de la hilera del polinizador según el método de la invención, la ganancia de espacio para plantar plantas triploides adicionales sería $33,3\%/2$ o aproximadamente 17%.

Ejemplo 4: En referencia a los tres ejemplos anteriores, cuando los triploides se plantan en hileras separadas 2,4 m (8 pies) y la relación de diploide a triploide es 1:3, está claro ahora que la reducción a la mitad de la anchura de las hileras de polinizador ganará espacio para plantar un 12% adicional.

Ejemplo 5: También está dentro del alcance de la invención reducir la anchura de las hileras de polinizadores hasta aproximadamente 1/3 de la anchura de las hileras de triploides. Así, según la presente invención, con cualquier anchura de hilera, cuando la relación de hileras de diploides a hileras de triploides es:

(a) 1:2, el ahorro de superficie de campo para plantas triploides adicionales es $(33\% \times 2/3)$ o 22%.

(b) 1:3, el ahorro de superficie de campo para plantas triploides adicionales es $(25\% \times 2/3)$ o 16,5%.

(c) 1:4, el ahorro de superficie de campo para plantas triploides adicionales es $(20\% \times 2/3)$ o 13,2%.

También está dentro del alcance de la invención reducir la anchura de las hileras de polinizadores hasta aproximadamente 2/3 de la anchura de las hileras de triploides.

Ejemplo 6: También está dentro del alcance de la invención plantar intercaladamente las plantas diploides dentro de las hileras de plantas triploides. Según la invención, las plantas triploides se plantan en primer lugar a máquina o a mano en hileras separadas regularmente. Las plantas triploides dentro de cada hilera se plantan, por ejemplo, separadas 1,1 m (3 pies). Después de que las plantas triploides estén en el campo según se describe, las plantas de sandía polinizadoras diploides de la invención se plantan intercaladamente, a mano, dentro de cada hilera

aproximadamente a medio camino entre las plantas triploides. Así, en este ejemplo, las plantas diploides se plantan a aproximadamente 0,46 m (1,5 pies) de las plantas triploides de la orilla dentro de la hilera. Debido a las características del polinizador mejorado de la invención, las plantas diploides se pueden plantar intercaladamente dentro de cada hilera después de cada 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 plantas triploides consecutivas. Actualmente, se prefiere en la industria plantar las plantas diploides después de cada 2 (1:2) o 3 (1:3) plantas triploides dentro de la hilera. Se ha presentado una relación 1:4, pero normalmente no se usa en campos comerciales debido a una polinización inadecuada de las plantas triploides. La superficie de campo ahorrada bajo este ejemplo, cuando se compara con ambos métodos actuales de plantar diploides en hileras separadas o dentro de una hilera en las relaciones (diploide:triploide) de:

(a) 1:2, es 33.3%,

(b) 1:3, es 25%,

(c) 1:4, es 20%.

El polinizador mejorado y el método de la presente invención comprenden plantar las sandías polinizadoras mejoradas en hileras que son más estrechas que las hileras que contienen las plantas triploides. Aunque la hilera de diploides más estrecha fomenta el crecimiento de plantas diploides en la hilera de plantas triploides, las nuevas características de la sandía polinizadora mejorada la permiten mantener su capacidad para polinizar suficientemente las plantas triploides en el campo. Así, la sandía polinizadora mejorada y el método de la presente invención incrementan el rendimiento de sandías sin semillas en un campo.

Ejemplo 7: Se usa un diseño de parcelas divididas para este experimento para probar tres polinizadores mejorados endogámicos y tres polinizadores mejorados híbridos frente a los controles comerciales Sangria 2:1 y Sangria 3:1. Los 6 polinizadores mejorados se insertaron entre plantas triploides separadas regularmente [203 cm x 61 cm (80 pulgadas x 24 pulgadas)] en la relación de 3:1. Para la relación de Sangria 2:1, cada tercer espacio es una planta de Sangria. Para la relación de Sangria 3:1, cada 4º espacio es una planta de Sangria. También se incluye una relación 5:1 en esta prueba usando los polinizadores mejorados mixtos. En este tratamiento, la planta de polinizador mejorado se inserta entre la 5ª y 6ª plantas triploides separadas regularmente. De ese modo, hay 9 parcelas principales totales, los 9 tratamientos/polinizadores principales, en este experimento. Las 9 parcelas principales se separan mediante plantas de melón. Se usan 3 triploides diferentes, las subparcelas, con dos 2 replicaciones para probar diferentes polinizadores (véase la tabla 3). Las plantas se desarrollan bien excepto el daño por minador de las hojas. Este daño da como resultado un menor tamaño de los frutos para Palomar y Tri-X-313. Los estudios se evalúan después de alrededor de dos meses. Se cuenta el número de frutos triploides en cada subparcela. Los primeros 15 frutos de cada subparcela se recolectan no selectivamente y se pesan. También se recolectan 10 frutos de cada polinizador y se mide la firmeza de la cáscara. Los datos se analizan usando S-Plus 6.1. También se evalúan el tamaño de los frutos y otras características de los frutos de las variedades de polinizadores mejorados.

Como se muestra en la tabla 3, se alcanza un cuajado de los frutos por planta muy similar para todos los polinizadores usados. Se producen frutos triploides sin semillas menores cuando se usa Sangria como polinizador en la relación de 2:1 en este experimento. Esto se podría deber a la fuerte competencia de Sangria con la planta triploide por el espacio, el agua y el nutriente. Se producen muchos más frutos sin semillas por hectárea, 25% (en comparación con la relación 3:1) a 33% (en comparación con la relación 2:1 estándar), cuando se usan como polinizador variedades de polinizador mejorado.

La cáscara de las variedades de polinizador mejorado de la presente invención es mucho menos duradera en comparación con el polinizador diploide Sangria, según se indica por la fuerza usada para penetrar en la cáscara usando un medidor de firmeza de frutos (Fruit Firmness Tester FT02 de Wagner Instruments, Greenwich, CT 06836). Si el polinizador no se recolecta por su valor comercial, su cáscara frágil permite que el fruto del polinizador se destruya durante la recolección de los frutos o poco después. Esto es útil para descargar la planta polinizadora y mantener la capacidad de floración de las plantas polinizadoras durante períodos de tiempo más prolongados. La cáscara frágil del polinizador mejorado también reduce el riesgo de persistencia hasta la siguiente estación, como una mala hierba, ya que el fruto y los residuos de la planta se pueden destruir fácilmente, después de la recolección de los frutos triploides.

Las plantas de polinizador mejorado florecen alrededor de 7 días antes que las de Sangria diploide. Las plantas de polinizador mejorado producen más de dos veces la cantidad de ramas en comparación con Sangria. Esto permite que las plantas de polinizador mejorado produzcan más flores masculinas, reduciendo de ese modo el número de plantas polinizadoras necesarias. La enredadera de la planta de polinizador mejorado es mucho más ligera que las plantas diploides regulares. El tamaño de las hojas y el tamaño de los lóbulos foliares del polinizador mejorado son mucho menores que los de Sangria. Todo esto hace al polinizador mejorado mucho menos competitivo por la luz, el agua y el fertilizante en comparación con sandía diploide normal.

Las plantas de polinizador mejorado están produciendo flores masculinas después de la recolección de frutos triploides sin semillas. Esto da el potencial de tener un segundo cuajado de fruto y múltiples recolecciones de frutos

triploides sin semillas con un solo plantado. Las flores masculinas se abren antes por la mañana en comparación con las sandías normales, especialmente los días más fríos.

Tabla 3. Rendimientos de frutos de sandía sin semillas producidos al usar diferentes polinizadores y firmeza de la cáscara de diferentes polinizadores

Frutos/Planta				Frutos/Hectárea (Acre)				Peso de los frutos, kg (libras)				Firmeza de la cáscara (g/mm²)	
Polinizador	Palomar	RWT8124	TriX313	Media	Palomar	RWT8124	TriX313	Media	Palomar	RWT8124	TriX313	Media	
SP Hyb 5:1	2,00	3,60	2,15	2,58	16146 (6534)	28793 (11652)	17191 (6957)	20710 (8381)	6,2 (13,6)	2,7 (6,0)	7,0 (15,4)	5,3 (11,6)	NA
SP1	2,05	3,55	1,95	2,53	16603 (6719)	28815 (11661)	15847 (6413)	20423 (8265)	5,5 (12,2)	2,6 (5,7)	6,6 (14,6)	4,9 (10,8)	121
SP1 x SP3	2,00	3,60	2,15	2,58	16257 (6579)	29040 (11752)	17300 (7001)	20866 (8444)	6,0 (13,2)	2,7 (6,0)	6,8 (14,9)	5,2 (11,3)	139
SP2	1,90	3,50	1,90	2,43	15464 (6258)	28365 (11479)	15165 (6137)	19665 (7958)	5,5 (12,1)	2,7 (6,0)	6,0 (13,3)	4,8 (10,5)	123
SP2 x SP1	1,85	3,30	2,20	2,45	14836 (6004)	26509 (10728)	17559 (7106)	19635 (7946)	5,9 (13,1)	2,6 (5,8)	6,4 (14,0)	4,9 (10,9)	129
SP3	1,90	3,40	1,55	2,28	15345 (6210)	27602 (11170)	12642 (5116)	18530 (7499)	5,8 (12,8)	2,7 (6,0)	6,4 (14,1)	5,0 (11,0)	133
SP3 x SP2	1,90	3,60	2,05	2,52	15367 (6219)	28785 (11649)	16252 (6577)	29137 (8149)	5,7 (12,5)	2,6 (5,8)	6,3 (13,9)	4,9 (10,7)	129
Sangría 2:1	1,90	3,50	2,00	2,47	10097 (4086)	18770 (7596)	10811 (4375)	13225 (5352)	4,8 (10,5)	2,6 (5,7)	5,7 (12,5)	4,4 (9,6)	302
Sangría 3:1	1,95	3,35	1,95	2,42	11705 (4737)	20381(8248)	12017 (4863)	14700 (5949)	5,6 (12,4)	2,5 (5,6)	5,9 (12,9)	4,7 (10,3)	
Media	1,95	3,52	2,02	2,49	14258 (5770)	25711 (10405)	14693 (5946)	18222 (7374)	5,7 (12,5)	2,6 (5,8)	6,3 (13,8)	4,9 (10,7)	154
Factor	valor de P				valor de P				valor de P				valor de P
Polinizador	0,0239				0,0000				0,0000				0,0000
Triploide	0,0000				0,0000				0,0000				0,0000
Polinizador*Triploide	0,4121				0,0061				0,0029				0,0029
Replicación	0,9372				0,8580				0,6310				0,6310
													0,0000

Ejemplo 8: Ocho variedades de triploide (véase la tabla 4) se trasplantan a dos lechos de 203 cm (80 pulgadas) y separados 61,0 cm (24 pulgadas). Estos dos lechos se colocan en el centro del bloque de evaluación de híbridos normales. Un lecho de híbridos diploides se coloca en cada cara de los dos lechos de estudio para eliminar el factor de la polinización. Alrededor de 90 plantas se trasplantan para cada variedad. Dos días más tarde, cada parcela de triploides se divide en 2 subparcelas y las plantas de polinizador mejorado SP1 de la presente invención se insertan en una de las 2 subparcelas en la relación de 3:1, para cada una de las 8 variedades de triploide. Este patrón de plantado permite 8.056 plantas triploides por hectárea (3.260 plantas triploides por acre). Las 8 variedades triploides difieren en el tamaño, la forma y la madurez de los frutos. Alrededor de 10 semanas después, los 30 primeros frutos se recolectan no selectivamente de cada subparcela y se pesan usando una balanza digital. Los datos se analizan usando S-Plus 6.1.

Según se muestra en la tabla 4, las diferencias en el tamaño de los frutos solamente se deben a las diferencias en las variedades de triploide. La inserción del polinizador mejorado SP1 entre plantas triploides regularmente separadas en la relación de 3:1 no reduce el tamaño del fruto de frutos triploides sin semillas, independientemente del tipo de variedad de triploide. Las variedades de triploide usadas en este estudio representan un espectro muy amplio de triploides usados en la producción comercial. Difieren en el tamaño de los frutos, la forma de los frutos y la madurez. Así, insertar plantas de polinizador mejorado de la presente invención entre plantas triploides separadas regularmente no reduce el tamaño de los frutos de las sandías triploides sin semillas. Por lo tanto, un productor de plantas sin semillas puede plantar sus campos con plantas triploides y a continuación insertar las plantas de polinizador mejorado en una relación de 3:1 o menos. Este patrón y esta relación de plantado permiten a los productores producir rendimientos significativamente superiores (de 25 a 33%) de frutos sin semillas por hectárea.

Tabla 4: Efecto de insertar un superpolinizador entre plantas triploides separadas regularmente [203 cm x 61 cm (80 pulgadas x 24 pulgadas) en la relación de 3:1 en el tamaño de los frutos de ocho variedades de sandías triploides diferentes]

Variedad de triploide	Inserción de Superpolinizador			Media
	No	Si		
3X Sangria	18,05	18,51		18,28
Palomar	14,23	16,21		15,22
RWT 8126	16,97	17,15		17,06
RWT8124	6,26	6,03		6,15
RWT8139	15,46	14,43		14,94
RWT8140	15,31	15,73		15,52
Shadow	15,97	14,73		15,35
Tri-X-313	15,77	15,60		15,69
Media	14,75	14,80		14,77
Factor	Valor de P			
Variedad de triploide	0,0000			
Superpolinizador	0,8829			
Variedad*Superpolinizador	0,2451			

Depósito

Los Solicitantes han realizado un depósito de al menos 2.500 semillas de la línea polinizadora de sandía mejorada NO1F3203B (ahora llamada SP1) en the American Type Culture Collection (ATCC), Manassas, Virginia, 20110-2209 U.S.A., N° Depósito ATCC: PTA-4856. Este depósito de la línea polinizadora de sandía mejorada NO1F3203B/SP1 se mantendrá en el depósito de ATCC, que es un depósito público, durante un período de 30 años, o 5 años después de la solicitud más reciente, o durante la duración efectiva de la patente, lo que suponga más tiempo, y se reemplazará si se hace inviable durante ese período. Adicionalmente, los Solicitantes han satisfecho todos los requisitos de 37 C.F.R. §§1.801-1.809, incluyendo proporcionar una indicación de la viabilidad de la muestra. Los solicitantes no imponen restricciones a la disponibilidad del material depositado del ATCC; sin embargo, los Solicitantes no tienen autoridad para rechazar cualesquiera restricciones impuestas por la ley sobre la transferencia de material biológico o su transporte comercial. Los solicitantes no renuncian a cualquier violación de sus derechos concedidos bajo esta patente o bajo the Plant Variety Protection Act (7 USC 2321 y sig.).

La invención precedente se ha descrito con detalle a modo de ilustración y ejemplo con propósitos de claridad y comprensión. Sin embargo, será obvio que ciertos cambios y modificaciones tales como modificaciones y mutaciones de un solo gen, variantes somaclonales, individuos variantes seleccionados de grandes poblaciones de las plantas de la línea endogámica y similares se pueden poner en práctica dentro del alcance de la invención, que está limitada solamente por el alcance de las reivindicaciones adjuntas. Así, aunque la precedente invención se ha descrito con algún detalle en este documento, será obvio que se pueden poner en práctica cambios y modificaciones dentro del alcance de la invención, que está limitada solamente por el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Uso de una planta de sandía diploide que comprende un gen *e* como polinizador para plantas de sandía triploides en un procedimiento para producir frutos de sandía triploide sin semillas, en donde los frutos de la planta de sandía diploide están en un intervalo de tamaño de entre 0,9 y 3,2 kg y la cáscara de los frutos es frágil, rompiéndose bajo una presión en el intervalo de 90 a 150 g/mm².
2. Uso según la reivindicación 1, en el que la planta de sandía diploide se planta en un campo de plantas de sandía triploides y se recolectan dichos frutos de sandía triploide sin semillas.
3. Uso según la reivindicación 1, en el que los frutos no recolectados de la planta de sandía diploide se eliminan de la reproducción adicional a través de supresión de cultivo convencional tal como escarificación y arado.
4. Un método para producir frutos de sandía triploide sin semillas que comprende las etapas de:
 - a) plantar un campo con hileras de plantas de sandía triploides;
 - b) plantar dicho campo con hileras de plantas de sandía diploides que comprenden un gen *e* y frutos pequeños en un intervalo de tamaño de entre 0,9 y 3,2 kg con una cáscara frágil que se rompe bajo una presión en el intervalo de 90 a 150 g/mm²; y
 - c) permitir la polinización de dichas plantas de sandía triploides con polen de dichas plantas de sandía diploides para obtener frutos de sandía triploide sin semillas.
5. Un método para incrementar el rendimiento de plantas de sandía triploides sin semillas, en donde el método comprende las etapas de:
 - a) obtener plantas de sandía diploides para polinizar dichas plantas de sandía triploides sin semillas, plantas de sandía diploides que comprenden un gen *e* y frutos pequeños en un intervalo de tamaño de entre 0,9 y 3,2 kg con una cáscara frágil que se rompe bajo una presión en el intervalo de 90 a 150 g/mm²;
 - b) plantar dichas plantas de sandía diploides en un campo de plantas de sandía triploides;
 - c) permitir la polinización de dichas plantas de sandía triploides con polen de dichas plantas de sandía diploides para obtener frutos de sandía triploide sin semillas; y
 - d) recolectar dichos frutos de sandía triploide sin semillas.
6. El método según la reivindicación 5, que comprende la etapa adicional de
 - e) eliminar los frutos no recolectados de la planta de sandía diploide de la reproducción adicional a través de supresión de cultivo convencional tal como escarificación y arado.