

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 996 216**

51 Int. Cl.:

A01H 1/04 (2006.01)

A01H 5/10 (2008.01)

C12Q 1/68 (2008.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.04.2007 PCT/EP2007/053570**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.10.2007 WO07116096**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.04.2007 E 07728037 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.10.2024 EP 1998608**

54 Título: **Plantas de brassica oleracea con resistencia a mycosphaerella brassicicola**

30 Prioridad:

12.04.2006 NL 1031584

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

12.02.2025

73 Titular/es:

**BEJO ZADEN B.V. (100.00%)
Trambaan 1
1749 CZ Warmenhuizen, NL**

72 Inventor/es:

BARTEN, PIET

74 Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

ES 2 996 216 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

Plantas de brassica oleracea con resistencia a mycosphaerella brassicicola

5 La presente invención se refiere a plantas de *Brassica oleracea* que son resistentes a *Mycosphaerella brassicicola*, la causa de la enfermedad de la mancha anular.

10 *Mycosphaerella brassicicola* (que a veces también aparece con los nombres de *Sphaeria brassicicola*, *Sphaerella brassicicola*, *Dothidea brassicae*, *Asteroma brassicae* y *Phyllosticta brassicicola* (Punithalingham y Holliday, Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, Instituto Micológico de la Commonwealth (CMI, por sus siglas en inglés), Inglaterra, n.º 468, 1975) es la causa de la llamada enfermedad de la mancha anular en plantas de *Brassica*. El hongo, que se ha presentado en muchos lugares desde principios de los ochenta y, en algunos casos, incluso ha alcanzado proporciones epidémicas, pertenece a los ascomicetos y forma lesiones de color marrón grisáceo en las hojas de las plantas, en las que eventualmente se forman las ascosporas. Estas esporas son el medio de diseminación del hongo y se esparcen principalmente por el viento y las gotas de lluvia. El hongo crece mejor en condiciones húmedas y templadas. Debido a una combinación de factores, la *M. brassicicola* se puede esparcir rápidamente en un área grande. Una infección grave por *M. brassicicola* puede dar como resultado un rápido envejecimiento de las hojas, la defoliación y la consiguiente reducción del rendimiento de los cultivos. Además, esto puede provocar daños estéticos en el producto (la planta y/o partes de la planta), ya que también la infección por *M. brassicicola* puede incluso esparcirse durante el almacenamiento del producto y porque las lesiones forman un foco de invasión para infecciones secundarias (por ejemplo *Botrytis spp.*).

15 Las plantas hospedadoras de *M. brassicicola* comprenden casi todas las especies de *Brassica*, incluidas *B. campestris*, *B. carinata*, *B. napus*, *B. nigra*, *B. oleracea* y además *Raphanus sativus*, y también algunas malas hierbas crucíferas, incluidas *Hirschfeldia incana*, *Matthiola incana*, *Sisymbrium officinale* y *Thlaspi arvense*.

20 La *Brassica* es un género de plantas de la familia de las *Brassicaceae* (anteriormente denominadas *Cruciferae*). Los miembros de este género también reciben colectivamente el nombre de col o mostaza. El género *Brassica* comprende varios cultivos agrícolas y hortícolas importantes, incluidos la colza, la coliflor, la col lombarda, la col de Milán, la col blanca, la col corazón de buey, el kale rizado, el brócoli, las coles de Bruselas, la col china, la col nabo y la col portuguesa (tronchuda). Casi todas las partes de las plantas se utilizan como alimento, como las raíces (nabo), los tallos (col nabo), las hojas (col blanca), las yemas axilares (brotes), las flores (coliflor, brócoli) y las semillas (colza). Algunas especies con flores blancas o moradas, o con un color o forma distintos de las hojas, se cultivan con fines ornamentales.

25 Si bien es posible controlar la *M. brassicicola* con fungicidas, el número de agentes permitidos y el uso de estos agentes son cada vez más limitados por motivos ambientales y relacionados con la salud. Además, el uso de fungicidas para controlar la *M. brassicicola* no es fácil porque es difícil determinar el momento correcto para el tratamiento. Por lo tanto, es deseable desarrollar plantas de *Brassica*, en particular las plantas de *Brassica oleracea*, que sean resistentes al hongo descrito anteriormente. No hay variedades de *Brassica* disponibles con resistencia a la *M. brassicicola*.

30 El objeto de la presente invención es proporcionar una planta de *Brassica oleracea* con resistencia a *M. brassicicola*, la causa de la enfermedad de la mancha anular.

35 La invención proporciona para este fin una planta de *Brassica oleracea* tal como se define en las reivindicaciones adjuntas. Específicamente, la presente invención proporciona una planta de *Brassica oleracea* con resistencia a *M. brassicicola*, la causa de la enfermedad de la mancha anular, que comprende un gen de resistencia a *M. brassicicola*, en donde dicho gen de resistencia proporciona una resistencia monogénica y dominante a *M. brassicicola*, y en donde el gen de resistencia se deriva de la planta *B. oleracea*, cuyas semillas se han depositado en la Colección americana de cultivos tipo (ATCC, por sus siglas en inglés, Depósito para patentes, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110, Estados Unidos de América) el 1 de marzo de 2006 con el número PTA-7413. Sorprendentemente, se ha descubierto que con el gen de resistencia según la invención se proporciona una resistencia dominante a dos especies fisiológicas (fisiologías) de *M. brassicicola*. Se trata de una especie fisiológica que se presenta frecuentemente en los Países Bajos y de una especie fisiológica más virulenta que se encuentra frecuentemente en las regiones de coliflor del oeste de Francia (particularmente Normandía y Bretaña) y en las regiones de coles de América Central (particularmente Guatemala).

40 El gen de resistencia en la planta de *B. oleracea* se liga a uno o más marcadores de ADN específicos. Estos marcadores demuestran la presencia del gen de resistencia de la invención.

45 En una realización preferida de la invención, el gen de resistencia a *M. brassicicola* se liga a, al menos, dos, preferiblemente al menos tres, con mayor preferencia al menos cuatro, con mayor preferencia al menos cinco, con la máxima preferencia seis marcadores de ADN, en donde los marcadores de ADN encierran el gen de resistencia. En la presente solicitud se entiende que "encerrar" significa que los marcadores de ADN se ubican en el genoma a ambos lados del gen de resistencia, es decir, "corriente arriba" y "corriente abajo" del gen de resistencia. La demostración de

la presencia de una pluralidad de marcadores de ADN, que se ligan al gen de resistencia y que encierran el gen de resistencia, asegura que la introgresión con el gen de resistencia esté realmente presente.

5 Los marcadores de ADN se seleccionan de la tabla 1, en donde la presencia de los marcadores de ADN en el genoma de la planta se demuestra usando las secuencias de cebadores seleccionadas del grupo que consiste en Id. de sec. n.º 1 hasta Id. de sec. n.º 5 inclusive.

10 En la investigación que condujo a la presente invención, se ha demostrado que los marcadores de ADN relevantes son característicos de la introgresión de la resistencia a M. brassicicola. Los marcadores de ADN según la invención son fragmentos de ADN que se ligan al gen de resistencia relevante, tienen un tamaño determinado (pb) como se indica en la tabla 1 y pueden demostrarse usando combinaciones de cebadores específicas.

15 La planta según la invención se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en *B. oleracea* convar. botrytis var. botrytis (coliflor, romanesco), *B. oleracea* convar. botrytis var. cymosa (brócoli), *B. oleracea* convar. botrytis var. asparagoides (brotes de brócoli), *B. oleracea* convar. oleracea var. gemmifera (coles de Bruselas), *B. oleracea* convar. capitata var. alba (col blanca, col corazón de buey), *B. oleracea* convar. capitata var. rubra (col lombarda), *B. oleracea* convar. capitata var. sabauda (col de Milán), *B. oleracea* convar. acephela var. sabellica (kale rizado), *B. oleracea* convar. acephela var. gongylodes (col nabo) y *B. oleracea* var. tronchuda syn. costata (col portuguesa).

20 Se describe un método para obtener una planta de *B. oleracea* con resistencia a M. brassicicola, método que comprende al menos las siguientes etapas de:

25 (a) proporcionar una primera planta de *B. oleracea*, planta que comprenda un gen de resistencia a M. brassicicola;

(b) cruzar la planta resistente con una segunda planta de B. oleracea susceptible;

30 (c) aislar el ADN genómico de la progenie para detectar la presencia de una introgresión con el gen de resistencia utilizando uno o más marcadores de ADN específicos ligados al gen de resistencia; y

(d) seleccionar de la progenie una planta de B. oleracea en la que se haya demostrado la presencia de la introgresión con el gen de resistencia en la etapa (c).

35 Con el método anterior, pueden proporcionarse plantas de B. oleracea de manera rápida y sencilla haciendo uso de marcadores de ADN que son específicos de la introgresión con el gen de resistencia.

40 La presión de la enfermedad de M. brassicicola puede ser muy variable debido a diferentes factores naturales como el viento, la temperatura, la humedad del aire y el medio ambiente (entre otros, otras plantas hospedadoras). De esta manera, pueden producirse grandes diferencias en el grado de infección. Además, los síntomas pueden confundirse fácilmente con las enfermedades causadas por Alternaria brassicae y A. brassicicola. Usando el método anterior, el uso de los marcadores de ADN específicos ligados a un gen de resistencia, es posible determinar de manera sencilla si una planta contiene el gen de resistencia. De esta manera, se pueden obtener además plantas de *B. oleracea* resistentes más rápidamente que con los programas de mejoramiento genético convencionales. Muchas especies de Brassica tienen un ciclo bianual en el que la planta está en fase vegetativa en el primer año y florece y produce semillas en el segundo año. Al utilizar los marcadores de ADN específicos ligados a un gen de resistencia, el proceso puede acelerarse hasta un ciclo anual porque no es necesario realizar una prueba de enfermedad ni las plantas tienen que crecer hasta la etapa adulta para que sea posible la selección. Por lo tanto, se pueden ahorrar muchos años en el programa global de mejoramiento genético.

50 Las plantas seleccionadas en la etapa (d) pueden someterse opcionalmente a etapas adicionales, tales como el retrocruzamiento o la autopolinización de la planta obtenida en la etapa (d) una o más veces con una planta de B. oleracea susceptible y, posteriormente, seleccionar una vez más de la progenie una planta de B. oleracea resistente usando los marcadores de ADN específicos. Las plantas obtenidas en la etapa (d) también pueden hacerse homocigotas, por ejemplo, mediante técnicas conocidas por el experto en la técnica, tales como el cultivo de anteras y/o microsporas.

60 La primera planta de B. oleracea comprende un gen de resistencia derivado de la planta de B. oleracea, cuyas semillas se han depositado en la Colección americana de cultivos tipo (ATCC, Depósito para patentes, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110, Estados Unidos de América) el 1 de marzo de 2006 con el número PTA-7413.

65 En otra realización preferida del método según la invención, la selección de la planta de B. oleracea resistente en la etapa (d) comprende seleccionar una planta de B. oleracea que comprende al menos dos, preferiblemente al menos tres, con mayor preferencia al menos cuatro, con mayor preferencia al menos cinco y con la máxima preferencia seis marcadores de ADN ligados al gen de resistencia, en donde los marcadores de ADN encierran el gen de resistencia.

De esta manera, es posible determinar con certeza que la planta realmente posee la introgresión con el gen de resistencia.

5 Los marcadores de ADN según la invención se seleccionan preferiblemente de la tabla 1, en donde la presencia de los marcadores de ADN en el genoma de la planta se demuestra usando las secuencias de cebadores elegidas del grupo que consiste en Id. de sec. n.º 1 hasta la Id. de sec. n.º 5 inclusive (tabla 2).

10 La planta de B. oleracea susceptible en la que se inserta el gen de resistencia se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en B. oleracea convar. botrytis var. botrytis (coliflor, romanesco), B. oleracea convar. botrytis var. cymosa (brócoli), B. oleracea convar. botrytis var. asparagoides (brotes de brócoli), B. oleracea convar. oleracea var. gemmifera (coles de Bruselas), B. oleracea convar. capitata var. alba (col blanca, col corazón de buey), B. oleracea convar. capitata var. rubra (col lombarda), B. oleracea convar. capitata var. sabauda (col de Milán), B. oleracea convar. acephela var. sabellica (kale rizado), B. oleracea convar. acephela var. gongylodes (col nabo) y B. oleracea var. tranchuda syn. costata (col portuguesa).

15 La invención se refiere además a plantas de B. oleracea que se pueden obtener mediante el método descrito anteriormente, y a las semillas y/o partes de plantas de las mismas.

20 La invención se explica con mayor detalle sobre la base del siguiente ejemplo.

Ejemplo

25 La línea precursora de B. oleracea, resistente a M. brassicicola (9009899, tipo coliflor; depositada en la ATCC con el número PTA-7413) se cruzó con diferentes especies de B. oleracea (col nabo, brócoli, col corazón de buey, col blanca, col lombarda, kale rizado, col de Milán, tronchuda, coles de Bruselas y coliflor). Se obtuvieron poblaciones de la variedad BC1 tras el retrocruzamiento con las líneas precursoras susceptibles.

30 Las pruebas de campo se realizaron en diferentes años. El material vegetal se recolectó en un año en el que el grado de infección por M. brassicicola fue alto y se presentó de manera uniforme en las diferentes especies de Brassica. El desarrollo de marcadores de ADN para la resistencia a M. brassicicola se inició con estas poblaciones. Casi todas las poblaciones tenían una división de 1:1 con respecto a la resistencia a M. brassicicola, lo que indica la resistencia dominante monogénica esperada.

35 Se utilizaron tres poblaciones (col corazón de buey, brócoli y col nabo), cada una de aproximadamente 150 individuos. El ADN de todos los individuos se aisló de muestras foliares obtenidas con un punzón (-0,3 cm²/muestra foliar obtenida con un punzón). Posteriormente se usó un método de análisis de segregantes agrupados (BSA, por sus siglas en inglés) para generar marcadores de ADN estrechamente ligados, en donde se utilizó la técnica de polimorfismo de microsatélites amplificados aleatorios (RAMP, por sus siglas en inglés) (Matsumoto y col., Mammalian Genome, 9: 531-535, 1998; Reiter, PCR-based marker systems, en: DNA-based markers in plants, Kluwer Academic Publishers, vol. 6: 9-29, 2001; Weising y col., Detecting DNA variation by molecular markers, en: DNA fingerprinting in plants, principles, methods and applications, CRC Press, 2ª ed.: 21-73, 2005).

45 La técnica RAMP, en la que se combinan una intersecuencia simple repetitiva (iSSR, por sus siglas en inglés) y un cebador de ADN polimórfico amplificado aleatorio (RAPD, por sus siglas en inglés), produce patrones de bandas que tienen fragmentos de ADN en los mismos que se cosegregan específicamente con la resistencia, por lo que se puede hacer una distinción entre los individuos que sí contienen la introgresión del gen de resistencia y los individuos que no contienen la introgresión.

50 Al mapear los fragmentos de RAMP, se identificaron marcadores de RAMP estrechamente ligados que se encuentran dentro de la introgresión y encierran el gen de resistencia, véase la tabla 1. La distancia genética entre el marcador de ADN y el gen de resistencia se muestra en centimorgans (cM).

Análisis de marcadores y condiciones de PCR

55 Las condiciones generales de PCR en las que se generaron los marcadores de ADN se muestran en el siguiente resumen.

PCR mixta para la reacción RAMP:

60 Por reacción

aproximadamente 1 ng de ADN genómico de la planta

65 Tris-HCl 75 mM (pH 8,8)

NH₄SO₄ 20 mM

ES 2 996 216 T3

0,01 % (v/v) Tween20

MgCl₂ 2,8 mM

5

cebador directo 0,15 pM

cebador inverso 0,20 pM

10

desoxinucleósido trifosfato (dNTP) 0,25 mM

0,04 unidades/pl de ADN-polimerasa Red Hot® (Abgene, Epsom, Reino Unido)

Programa de PCR:

15

RAPD35

Número de ciclos

1	2 min. 93 °C	1
20	2 30 s. 93 °C	
	3 30 s. 35 °C	
	4 calentamiento en 0,3 °/s. hasta 72 °C	
	5 1 min. 30 s. 72 °C	
25	2-5	40
	6 5 min. 72 °C	1

PAGE/Licor

30

Para el análisis de los patrones de RAMP se utilizó un "anализador de ADN Gene ReadIR 4200" (Licor Inc.). Sobre la base de una concentración óptima del 6,5 % de acrilamida, se pueden separar los fragmentos hasta llegar a una sola base. Para hacer visibles los fragmentos en este sistema, es necesario utilizar cebadores etiquetados (etiquetas IRDye). Para ello, se sustituyó un tercio de la cantidad de cebador directo por un cebador etiquetado con la misma secuencia.

35

Visión general de los marcadores

40

En la investigación que ha llevado a la presente invención, los cebadores a los que se hace referencia en la tabla 2 se han utilizado para generar los marcadores de ADN a los que se hace referencia en la tabla 1.

Tabla 1: Visión general de los marcadores de RAMP

45

Combinación de RAMP e Id. de sec.	Tamaño del fragmento (pb)	Posición en cM con respecto al gen de resistencia	
1+6	198	2,4	
2+6	360	0,7	
3+6	370	0,3	
50	4+6	230	1,2
	5+6	173	2,1
	5+6	473	3,2

55

Tabla 2: Visión general de Id. de sec. n.º

60

Id. de sec. n.º	Secuencia
1	iSSR CAGGAAACAGCTATGACAATGTCTCTCTCTCTC
2	iSSR CAGGAAACAGCTATGACTTGCTCTCTCTCTCTC
3	iSSR CAGGAAACAGCTATGACCACTTCTCTCTCTCTC
4	iSSR CAGGAAACAGCTATGACCTTTTCTCTCTCTCTC
5	iSSR CCAGGTGTGTGTGTGT
65	6 Kits A-01 a Z-20 de oligonucleidos de 10 bases Operon RAPD®

Id. de sec. n.º	Secuencia
------------------------	------------------

(Operon Biotechnologies, Inc. Huntsville, EE. UU.)	
--	--

5 Las combinaciones de cebadores forman fragmentos con un tamaño específico en la introgresión del gen de resistencia (Tabla 1). Por lo tanto, estos marcadores de ADN son característicos de la introgresión del gen de resistencia. La combinación de estos marcadores de ADN que encierran el gen de resistencia proporciona pruebas concluyentes de que la introgresión del gen de resistencia a M. brassicicola está presente.

10 **Definiciones**

BSA - Análisis de segregantes agrupados - estrategia de selección en la que, en grandes poblaciones segregantes, los individuos con el mismo rasgo (fenotipo) o ADN de estos individuos se agrupan en "grupos". Tras el cribado de estos grupos con técnicas de ADN, se identifican los marcadores que se ligan al fenotipo relevante.

15 cM - centimorgan - unidad de la distancia genética entre marcadores, basada en el número de cruces por cada cien individuos.

20 Marcador de ADN - un fragmento de ADN que se liga a un gen u otra parte de ADN con una ubicación conocida en el genoma, que se utiliza para monitorizar la heredabilidad de este gen o esta ubicación.

Electroforesis en gel - método para separar moléculas (ADN, ARN, proteínas, entre otros), en función de su tamaño, forma o carga, en una matriz (agarosa o poliacrilamida) bajo la influencia de un campo eléctrico.

25 Introgresión - un fragmento cromosómico de una línea que, por ejemplo, puede insertarse en otra línea mediante cruce.

Etiquetas IRDye - etiquetas infrarrojas que se utilizan en los sistemas de imágenes Licor, cuya detección se realiza a 700 nm u 800 nm.

30 Monogénico - determinado por un gen

35 PCR - Reacción en cadena de la polimerasa - un método de amplificación in vitro para multiplicar un fragmento de ADN específico. Esta reacción de síntesis utiliza un mínimo de un oligonucleótido que se hibrida con una parte de ADN, tras lo cual una polimerasa amplifica la región flanqueadora durante ciclos de temperatura sucesivos.

Cebador - un oligonucleótido corto (-20-50 pb) complementario a la secuencia de una molécula de ADN monocatenario, que sirve como punto de partida de una polimerasa.

40 RAMP - Polimorfismos de microsatélites amplificados aleatorios - técnica de huella genética basada en cebadores RAPD e iSSR con la que se detectan polimorfismos entre diferentes muestras de ADN.

45 RAPD - ADN polimórfico amplificado aleatorio - cebador de ADN polimórfico amplificado aleatorio: un oligonucleido de 10 bases con una secuencia "aleatoria", en el que el contenido de GC se encuentra entre el 60 % y el 70 % y en el que los extremos del cebador no son autocomplementarios.

50 iSSR - intersecuencia simple repetitiva - cebador de intersecuencia simple repetitiva: un cebador diseñado en el extremo 5' de una SSR (Secuencia única repetitiva); una parte de ADN que consiste en una repetición de 2 o 3 nucleótidos

BC - retrocruzamiento - cruce de un individuo con uno de los precursores originales.

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Planta de *Brassica oleracea*, que comprende un gen de resistencia a *Mycosphaerella brassicicola*, en la que dicho gen de resistencia proporciona una resistencia monogénica y dominante a *Mycosphaerella brassicicola*, y en la que el gen de resistencia se deriva de una planta de *Brassica oleracea*, cuyas semillas se han depositado en la Colección americana de cultivos tipo (ATCC Depósito para patentes, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110, Estados Unidos de América) el 1 de marzo de 2006 con el número PTA-7413, en donde dicha planta de *Brassica oleracea* con resistencia a *Mycosphaerella brassicicola* se obtiene mediante un método que comprende:

- (a) proporcionar una planta de *Brassica oleracea* PTA-7413;
- (b) cruzar una planta de *Brassica oleracea* PTA-7413 con una planta de *Brassica oleracea* susceptible;
- (c) aislar el ADN genómico de la progenie para detectar la presencia de una introgresión con el gen de resistencia utilizando uno o más cebadores de intersecuencia simple repetitiva (iSSR) específicos seleccionados del grupo que consiste en las Id. de sec. n.º 1 a 5 para detectar polimorfismos de microsatélites amplificados aleatorios (RAMP) vinculados al gen de resistencia; y;
- (d) seleccionar de la progenie una planta de *Brassica oleracea* en la que se haya demostrado la presencia de la introgresión con el gen de resistencia en la etapa (c), en donde los polimorfismos de microsatélites amplificados aleatorios (RAMP) se seleccionan del grupo que consiste en

- un fragmento de 198 pb que usa la combinación del cebador de intersecuencias simples repetitivas (iSSR) de la Id. de sec. n.º 1 y la Id. de sec. n.º 6;
- un fragmento de 360 pb que usa la combinación del cebador de intersecuencias simples repetitivas (iSSR) de la Id. de sec. n.º 2 y la Id. de sec. n.º 6;
- un fragmento de 370 pb que usa la combinación del cebador de intersecuencias simples repetitivas (iSSR) de la Id. de sec. n.º 3 y la Id. de sec. n.º 6;
- un fragmento de 230 pb que usa la combinación del cebador de intersecuencias simples repetitivas (iSSR) de la Id. de sec. n.º 4 y la Id. de sec. n.º 6;
- un fragmento de 173 pb o 473 pb que usa la combinación del cebador de intersecuencias simples repetitivas (iSSR) de la Id. de sec. n.º 5 y la Id. de sec. n.º 6;

en el que la Id. de sec. n.º 6 es un cebador Operon RAPD® de los kits A-01 a Z-20 de oligonucleidos de 10 bases.

2. Planta según la reivindicación 1, en donde la planta se selecciona del grupo que consiste en coliflor, romanesco, brócoli, brotes de brócoli, coles de Bruselas, col blanca, col corazón de buey, col lombarda, col de Milán, kale rizado, col nabo y col portuguesa.