

OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 896 887**

⑮ Int. Cl.:

**A01H 5/12** (2008.01)  
**C07K 14/415** (2006.01)  
**C12N 15/82** (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑥ Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.10.2015 PCT/EP2015/075127**

⑦ Fecha y número de publicación internacional: **06.05.2016 WO16066748**

⑨ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.10.2015 E 15797609 (3)**

⑩ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.08.2021 EP 3211991**

---

④ Título: **Plantas de lechuga con resistencia al biotipo 1 de *Nasonovia ribisnigri***

⑩ Prioridad:

**30.10.2014 EP 14191135**

⑤ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**28.02.2022**

⑩ Titular/es:

**NUNHEMS B.V. (100.0%)  
Napoleonsweg 152  
6083 AB Nunhem, NL**

⑩ Inventor/es:

**SCHAAREMAN, ROBERT THEODORUS  
GERARDUS;  
THOMAS, VINCENT PIERRE ANDRE;  
VAN DER AREND, ADRIANUS J. M.;  
RAEDTS, ROBERT, JOHANNES, MARTINUS y  
RODRIGUEZ, OLGA JULIÁN**

⑩ Agente/Representante:

**GONZÁLEZ PESES, Gustavo Adolfo**

**ES 2 896 887 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 lechuga con resistencia al biotipo 1 de *Nasonovia ribisnigri*

**Campo de la invención**

La presente invención se refiere a procedimientos de cribado de semillas, plantas y partes de plantas de lechuga cultivadas (*Lactuca sativa*) para detectar la presencia de uno o más fragmentos de introgresión de una lechuga silvestre, como *Lactuca virosa*, en el cromosoma 6 y/o en el cromosoma 7, por lo que el fragmento de introgresión comprende un locus de rasgo cuantitativo (QTL) para la resistencia contra el biotipo 1 de *Nasonovia ribisnigri* (también llamado en el presente documento Nr:1 o biotipo Nr: 1), denominados QTL6.1 (para el QTL del cromosoma 6) y QTL7.1. La presente invención también se refiere a procedimientos de cribado de semillas de lechuga cultivada (*Lactuca sativa*), plantas y partes de plantas cultivadas a partir de las semillas, que son resistentes al biotipo 1 de *Nasonovia ribisnigri* para detectar la presencia de un fragmento de introgresión de *L. virosa* que comprende QTL6.1 y/o QTL7.1. La invención se refiere además a los procedimientos de cribado de fuentes de lechuga silvestre para detectar la presencia de los QTL que confieren resistencia para su uso en la cría de plantas de lechuga resistentes a Nr: 1.

**Antecedentes de la invención**

El pulgón de la lechuga (*Nasonovia ribisnigri* (Mosley)) es una plaga importante que se da en la lechuga en todo el mundo. El problema empezó a ser grave para la producción de lechuga en los años 70 en el noroeste de Europa y se extendió rápidamente por toda Europa. Luego, en la década de 1980, se detectó el pulgón en Canadá. Más tarde, se informó del problema en los Estados Unidos (California y Arizona). Más recientemente, el pulgón de la lechuga se encontró en Nueva Zelanda y Australia.

Los pulgones de la lechuga pueden colonizar las plantas de lechuga en cualquier fase de la planta y se alimentan preferentemente de las hojas más jóvenes. Una gran cantidad de pulgones en la planta es capaz de reducir el crecimiento de la planta y deformar la forma de la cabeza, por lo que las cabezas de lechuga no son comercializables. La presencia de grandes cantidades de pulgones en las cabezas de lechuga es un motivo para que los minoristas se nieguen a comprar lechugas a los productores. En la fase de planta joven es posible controlar el pulgón de la lechuga utilizando un insecticida. Se ha informado de que varios productos son eficaces para controlar las poblaciones de áfidos. Sin embargo, se ha informado de la resistencia a los productos químicos en algunas poblaciones de áfidos. Además, en las fases de desarrollo más antiguas no es posible controlar los pulgones con insecticidas, ya que los productos químicos no pueden entrar en la cabeza de la lechuga.

Desde 2007, se conocen dos biotipos del pulgón de la lechuga en Europa, que fueron designados biotipo Nr:0 y Nr:1. Se ha encontrado resistencia completa y parcial contra *Nasonovia ribisnigri* biotipo Nr:0 en *Lactuca virosa*, un parente silvestre de la lechuga (Eenink y Dieleman, *Euphytica* 32(3), 691-695 (1982)). La resistencia completa se debía a un único gen dominante, denominado gen *Nr*. El gen *Nr* fue transferido de la accesión IVT280 de *L. virosa* a *L. sativa* cultivada y fue altamente efectivo (Arend et al. 1999, *Eucarpia Leafy Vegetables '99*. Universidad Palacky, Olomouc, República Checa, p149-157).

Sin embargo, los obtentores experimentaron que la liberación de variedades resistentes al pulgón de la lechuga no era sencilla. El gen de resistencia a *Nr* se encontró estrechamente vinculado a genes recesivos que confieren fuertes efectos secundarios negativos. Las plantas homocigotas para el gen *Nr* mostraron un crecimiento reducido, un color verde más claro y una degradación acelerada de la clorofila en las hojas más viejas. Este fenotipo negativo también se denominó fenotipo de "crecimiento compacto y envejecimiento rápido" o "fenotipo CRA" y fue posible encontrar plantas de lechuga recombinantes en las que el gen *Nr* estaba presente en forma homocigota, pero en las que el fenotipo CRA no se expresaba (véase, por ejemplo el documento EP 0921720 B1). Estas plantas recombinantes, en las que se había producido un evento de recombinación (es decir, cruce meiótico) entre el gen *Nr* y los genes recesivos vinculados, sirvieron como fuente del gen de resistencia a *Nr* que no estaba vinculado al fenotipo de efecto secundario negativo.

El gen de resistencia a *Nr* de IVT280 (CGN04683) se utiliza ampliamente en cultivares comerciales de lechuga, como los cultivares 'Barcelona', 'Mafalda' (ambos de Nunhems B.V.) y muchos otros.

Se siguen buscando otras fuentes de resistencia al biotipo Nr:0, ya que el uso a gran escala de un único gen de resistencia se enfrenta a la amenaza de la ruptura de la resistencia. Los genes que tienen diferentes mecanismos de resistencia pueden emplearse eficazmente en tales circunstancias. Por ejemplo, se encontraron nuevos genes de resistencia al biotipo Nr:0 en una accesión de *L. serriola* PI 491093 y en una accesión de *L. virosa* PI 274378 (Mc Creight 2008 *HortScience* 43:1355-1358 McCreight y Liu (2012), *HortScience* 47(2):179-184). La resistencia encontrada en PI274378 resultó ser completa y alélica al gen *Nr* de IVT280. En PI49093 se encontró una resistencia parcial, y los autores propusieron designar este alelo de resistencia a *Nr0P* (en contraste con *Nr0C* para el alelo de resistencia completa encontrado en PI274378). Sugirieron el uso de este alelo de resistencia parcial en zonas en las que el alelo de resistencia completa aún no se ha empleado de forma generalizada, con el fin de retrasar o prevenir la aparición de biotipos de pulgón que superen la resistencia a *Nr*.

También la resistencia contra *Nasonovia ribisnigri* biotipo Nr: Se busca el 1. También se desean diferentes genes de resistencia y mecanismos de resistencia en relación con Nr:1, para prolongar el uso de los genes de resistencia. Cuando se hace un uso a gran escala de un gen de resistencia, que tiene un determinado mecanismo de resistencia, las posibilidades de que la resistencia sea superada por la población de pulgones son altas, como ocurrió en 2007 con el gen Nr en Europa, cuando el nuevo biotipo Nr de *Nasonovia ribisnigri*: 1 apareció. Así pues, la situación actual es que el biotipo Nr:0 de los áfidos puede seguir siendo controlado por el único gen Nr derivado de la accesión IVT de *L. virosa* (por ejemplo, en los Estados Unidos, donde el biotipo Nr:1 todavía no se da), pero que este gen es ineficaz contra el biotipo Nr de los áfidos: 1 encontrado en Europa. El Nr: 1 se encontró por primera vez solo en Europa central, pero ahora se está extendiendo a otras zonas y en 2010 también se ha encontrado en campos de España (Cid et al. 2012, Interacciones entre artrópodos y plantas 6: 655-669).

Varias publicaciones describen fuentes que se sugiere que contienen un gen de resistencia contra el biotipo Nr:1 del pulgón de la lechuga. Por ejemplo, se ha descrito que tres accesiones (CGN13361, CGN16266, CGN16272) son resistentes a los biotipos de áfidos Nr:0 y Nr: 1 (Anónimo, 4. Nov. 2008, documento IP.COM 000176078) y se sugirió su uso en la cría de lechugas resistentes a Nr:0 y Nr:1 combinadas. En este artículo se dice que las accesiones de *L. virosa* CGN16272 y CGN16266 se utilizan en programas de retrocruzamiento con el cultivar Daguan (Syngenta) y el cultivar Funly (Syngenta), respectivamente (estos dos cultivares carecen de genes de resistencia a *Nasonovia* ), y se dice que la descendencia muestra una resistencia similar a la de las accesiones donantes. También se dice que los marcadores para el gen de resistencia de CGN 16272 se han desarrollado a partir de cruces de CGN16272 con el cultivar Cobham Green (Anónimo, 4. Nov. 2008, *supra*). Estas tres accesiones también fueron analizadas en Cid et al. (2012, *supra*) y se comprobó que comprendían una alta resistencia a Nr:0 pero sólo una resistencia parcial al biotipo Nr:1.

Cid et al. (2012, *supra*) también identificaron tres accesiones de *L. virosa* con cierta resistencia contra ambos biotipos Nr:1 y Nr:0, a saber, CGN16274, CGN21399 y CGN05148. En este estudio, el objetivo de los autores era encontrar resistencia contra los dos biotipos de pulgón de la lechuga, Nr: 0 y Nr:1, en una sola accesión de *Lactuca silvestre*. Sin embargo, los áfidos del biotipo Nr:1 siguen siendo capaces de alimentarse y reproducirse en estas accesiones silvestres, aunque en menor medida que en los controles susceptibles (véase la Fig. 4).

El documento WO2011/058192 informa de que *L. serriola* 10G.913571 es resistente al biotipo Nr:1 , aunque no se aportan datos que justifiquen esta afirmación y no se indica el nivel de resistencia ni los procedimientos para determinarlo.

Los documentos WO2012/066008 y WO2012/065629 también informan de la resistencia a Nr:1 de una accesión de *L. serriola* que se transfiere a una muestra de semillas a granel designada 10G.913569. Una vez más, no se facilitan datos ni se indica el nivel de resistencia ni los procedimientos para determinarla.

Así, en el estado de la técnica, como Anónimo 2008, arriba, y Cid et al. 2012, arriba, sólo se identifican unas pocas accesiones silvestres en las que la cantidad de pulgones de Nr: 1 se reduce en cierta medida y no se proporciona ninguna base genética.

Sigue siendo necesario identificar los genes que pueden conferir resistencia contra el biotipo Nr:1 para desarrollar lechugas cultivadas que comprendan la resistencia a Nr:1. Los inventores buscaron accesiones que se consideraban susceptibles a los áfidos del biotipo Nr:0, con el fin de identificar (nuevos) genes de resistencia contra el biotipo Nr: 1 en estas adhesiones. Además, también buscaron la identificación de los genes que pueden conferir resistencia tanto a la libre elección como a la no elección. Encontraron una accesión de *L. virosa* (de la que se depositó una muestra representativa de semillas bajo NCIMB42086) que comprendía altos niveles de resistencia contra el biotipo Nr:1, tanto en condiciones de libre elección como de no elección, y decidieron intentar mapear la resistencia, con el fin de identificar cuántas y qué regiones del genoma de *L. virosa* son responsables de conferir la resistencia a Nr:1.

Al intentar mapear la resistencia, los inventores se encontraron con graves problemas para crear una población de plantas utilizable para el mapeo de QTL (es decir, una población de mapeo que consiste en individuos que han sufrido recombinación meiótica cromosómica entre los genomas de *L. sativa* y *L. virosa* ). La razón es probablemente que los cromosomas de *L. virosa* y *L. sativa*, que son dos especies distintas, son bastante diferentes, lo que provoca barreras de cruce e infertilidad, así como posibles problemas durante la meiosis y el cruce. No se pudo generar ninguna población F2 utilizable, y sólo después de muchos cruces con varios progenitores recurrentes los inventores lograron generar familias de retrocruzamiento lo suficientemente grandes como para poder utilizarlas en estudios de mapeo. Estas poblaciones de mapeo tampoco eran fáciles de analizar mediante marcadores moleculares y fenotipado, es decir, fue bastante sorprendente que los inventores consiguieran generar un mapa genético con marcadores SNP polimórficos entre el progenitor recurrente y la accesión de *L. virosa* , y que también fueran capaces de mapear *Nasonovia* resistencia a Nr:1 en ese mapa.

Sorprendentemente, en el estudio inicial de mapeo de QTL (utilizando una población BC1) no encontraron un solo gen, sino tres regiones genómicas (de las cuales sólo dos se encontraron posteriormente también en una población de retrocruzamiento diferente) en dos cromosomas diferentes de *L. virosa* que contribuyen a la resistencia a Nr:1. Tanto las inoculaciones en ambiente controlado (de libre elección y no elección) como los datos de campo (también de libre elección y no elección) mostraron altos niveles de resistencia a Nr: 1, contra tres biotipos Nr: 1 (Alemania,

Francia y España). De hecho, en evaluaciones de campo en España (Murcia) las plantas semiadultas y adultas de la accesión NCIMB42086 no tenían ningún pulgón Nr:1 en sus hojas, tanto en las pruebas de libre elección como en las de no elección.

5 En el estudio de mapeo posterior, dos de los QTL (QTL6.1 y QTL7.1) fueron encontrados de nuevo y la región QTL pudo ser acotada. Este segundo estudio de mapeo no invalida los resultados del primer estudio, y los tres QTL se describen en el presente documento.

Se divultan en el presente documento tres QTL (designados QTL6.1, QTL7.1 y/o QTL7.2) de *L. virosa* que pueden utilizarse para generar plantas de lechuga cultivadas que comprendan resistencia contra el biotipo Nr:1.

10 En el presente documento también se divultan plantas de lechuga cultivadas que comprenden uno o dos o tres QTL (QTL6.1 y/o QTL7.1 y/o QTL7.2) introgresados de una lechuga silvestre, como *L. virosa*, en el genoma de *L. sativa*, por lo que las introgresiones confieren resistencia contra el biotipo Nr:1.

15 Por lo tanto, en el presente documento se dan a conocer diferentes plantas de lechuga cultivadas: a) plantas de lechuga cultivadas que comprenden sólo un QTL que confiere Nr: 1, seleccionados de entre los QTL6.1, QTL7.1 y QTL7.2; b) plantas de lechuga cultivadas que comprenden dos QTL que confieren resistencia a Nr: 1 seleccionados entre QTL6.1 y QTL7.1 y QTL7.2 (en un aspecto, una planta que comprende tanto QTL6.1 como QTL7.1 es una realización específica); c) plantas de lechuga cultivadas que comprenden tres QTL que confieren resistencia a Nr:1 seleccionados de QTL6.1, QTL7.1 y QTL7.2.

20 Además, se divultan en el presente documento plantas de lechuga cultivadas que comprenden uno o dos QTL seleccionados de QTL6.1 y QTL7.1 introgresados de una lechuga silvestre, como *L. virosa*, en el genoma de *L. sativa*, por lo que las introgresiones confieren resistencia contra el biotipo Nr:1.

25 En un aspecto descrito en el presente documento, los QTL se obtienen de (están como en) semillas depositadas bajo el número de acceso NCIMB42086. El fragmento o fragmentos de introgresión que comprenden el o los QTL son detectables mediante un ensayo de marcadores moleculares que detecta al menos 1, 2, 3, 4 o más marcadores. En otro aspecto descrito en el presente documento, los QTL se pueden obtener de (están como en) otras accesiones de lechuga silvestre resistentes a Nr:1, especialmente en accesiones de *L. virosa*, por lo que el fragmento o fragmentos de introgresión son detectables mediante un ensayo de marcadores moleculares que detecta al menos 1, 2, 3, 4 o más (es decir, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 o más) marcadores divulgados en el presente documento. En un aspecto descrito en el presente documento, la accesión de *L. virosa* es uno de los dos tipos de accesiones, y el fragmento de introgresión comprende un marcador SNP específico de la accesión de *L. virosa* (denominado VSP por Virosa Specific), seleccionado entre VSP1 y VSP2, ambos específicos para una accesión de *L. virosa* y VSP3 y VSP4, ambos específicos para otra accesión de *L. virosa*.

30 A pesar de los problemas en el mapeo de QTL interespecíficos mencionados anteriormente, como la infertilidad, la distorsión de la segregación, etc., las regiones QTL encontradas originalmente (que se mapearon originalmente en una región física que abarcaba de 60 a 240 Mb en el cromosoma 6; y de 170 a 235 Mb en el cromosoma 7 para el QTL7.1; y de 70 a 150 Mb para el QTL 7.2) pudieron mapearse en una región que abarcaba de 77 Mb a 161 Mb en el cromosoma 6 (que comprendía el QTL6.1) y de 203 Mb a 219 Mb en el cromosoma 7 que comprendía el QTL7.1.

35 Así, en un aspecto se divulga una planta cultivada de *Lactuca sativa* que comprende un fragmento de introgresión en el cromosoma 6 (que comprende QTL6.1) y/o en el cromosoma 7 (que comprende QTL7.1), cada uno en forma homocigota o heterocigota, en la que dicho fragmento de introgresión confiere resistencia contra *Nasonovia ribisnigri* biotipo 1 (Nr:1). En un aspecto descrito en el presente documento, el fragmento de introgresión comprende todo o parte de la región que comienza en 77 Mb en el cromosoma 6 y termina en 161 Mb en el cromosoma 6 y/o el fragmento de introgresión comprende todo o parte de la región que comienza en 203 Mb en el cromosoma 7 y termina en 219 Mb en el cromosoma 7. Véase, por ejemplo, la Figura 3B, que muestra los cromosomas 6 y 7 de *L. sativa*, en la que las barras grises ilustran los fragmentos de introgresión de una accesión resistente a Nr: 1 silvestre, como una accesión de *L. virosa* (por ejemplo, NCIMB42086) que comprende los QTL QTL6.1 y QTL7.1 que confieren resistencia, o variantes de los mismos. En un aspecto descrito en el presente documento, un fragmento de introgresión que comprende el QTL7.2 también puede estar presente opcionalmente en la planta de lechuga cultivada.

40 Se entiende que un fragmento de introgresión más pequeño (es decir, que comprenda una parte que confiera resistencia de la región antes mencionada que abarca de 77 Mb a 161 Mb del cromosoma 6) que conserve el QTL6.1 (o variante) puede ser un fragmento que tenga un tamaño de 80Mb, 70Mb, 60Mb, 50Mb, 40Mb, 30Mb, 20Mb, 10Mb, 5Mb, 2,5Mb, 2Mb, 1Mb, 0,5Mb, 100kb, 50kb o menos y que comprenda el QTL6.1 o una variante del mismo. En un aspecto, la parte tiene un tamaño de al menos 5kb, 10kb, 20kb o más.

45 Se entiende además que un fragmento de introgresión más pequeño (es decir, que comprenda una parte que confiera resistencia de la región antes mencionada que abarca de 203 Mb a 219 Mb del cromosoma 7) que conserve el QTL7.1 (o variante) puede ser un fragmento que tenga un tamaño de 15Mb, 10Mb, 5Mb, 2,5Mb, 2Mb, 1Mb,

0,5Mb, 100kb, 50kb o menos y comprenda el QTL7.1 o una variante del mismo. En un aspecto descrito en el presente documento, la pieza tiene un tamaño de al menos 5kb, 10kb, 20kb o más.

En un aspecto, el fragmento de introgresión en el cromosoma 6 es detectable mediante un ensayo de marcadores moleculares que detecta al menos uno, preferiblemente al menos 2 o 3 o 4 o 5 (o más) de los marcadores seleccionados del grupo que consiste en:

- 5 a) El genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP1.23 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 23;
- b) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_02 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 2;
- 10 c) el genotipo TT o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP2.24 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 24;
- d) el genotipo AA o AC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_03 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 3 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 3).

15 Opcionalmente, en un aspecto, el fragmento de introgresión comprende (y es detectable por) un marcador específico de la accesión de *L. virosa* seleccionado del genotipo GG o GT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido VSP1 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 26 y el genotipo AA o AC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido VSP3 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 27. Utilizando los marcadores SNP VSP1 y VSP3 se pueden distinguir los fragmentos de introgresión que comprenden el QTL6.1 de dos accesiones diferentes del tipo *L. virosa*.

20 En otro aspecto, el fragmento de introgresión en el extremo del cromosoma 7 que comprende el QTL 7.1 (en una posición física entre 203 Mb y 219 Mb del cromosoma 7) es detectable mediante un ensayo de marcadores moleculares que detecta al menos uno, preferiblemente al menos 2 o 3 o 4 o 5 (o más) de los marcadores seleccionados del grupo que consiste en:

- 25 a. el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_17 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 17;
- b. el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP 17.25 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 25;
- c. el genotipo GG o GC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_18 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 18;
- 30 d. el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_19 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 19.

35 Opcionalmente, en un aspecto, el fragmento de introgresión comprende (y es detectable por) un marcador específico de adhesión de *L. virosa* seleccionado del genotipo CC o AC para el marcador de polimorfismo de nucleótido único VSP2 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 28 y el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido VSP4 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 29. Utilizando los marcadores SNP VSP2 y VSP4 se pueden distinguir los fragmentos de introgresión que comprenden el QTL7.1 de dos tipos diferentes de accesiones de *L. virosa*.

40 Cuando se hace referencia a que el fragmento de introgresión es "detectable por un ensayo de marcadores moleculares que detecta" uno o más marcadores, esto significa que el fragmento de introgresión comprende el genotipo de resistencia de ese marcador.

45 También se describen semillas, plantas y partes de plantas o lechugas cultivadas que comprenden un fragmento de introgresión de una lechuga silvestre, como por ejemplo de *L. virosa*, que comprende el QTL6.1 y/o el QTL7.1 (y opcionalmente el QTL7.2), por lo que el fragmento de introgresión confiere resistencia contra *Nasonovia ribisnigri* biotipo Nr:1. En un aspecto descrito en el presente documento, el fragmento de introgresión procede de *L. virosa*, especialmente de las accesiones de *L. virosa* que comprenden resistencia a Nr:1 en las pruebas de elección libre y de no elección, como se describe en el presente documento. En un aspecto descrito en el presente documento, el fragmento de introgresión es de la accesión NCIMB42086 o se puede obtener de la accesión NCIMB42086, o de su progenie o descendencia.

50 En otro aspecto descrito en el presente documento, el fragmento de introgresión procede de una accesión de *L. virosa* que comprende los siguientes marcadores SNP específicos de la accesión de *L. virosa*: el genotipo GG (homocigoto) o el genotipo GT (heterocigoto) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 26 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 26), denominado marcador VSP1; y el genotipo CC (homocigoto) o AC (heterocigoto) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 28 (o en una secuencia que comprenda

una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 28), denominado VSP2. VSP1 y VSP2 se encuentran en Nr: 1, como NCIMB42086.

En otro aspecto descrito en el presente documento, el fragmento de introgresión procede de una accesión de *L. virosa* que comprende los siguientes marcadores SNP específicos de la accesión de *L. virosa*: el genotipo AA

5 (homocigoto) o el genotipo AC (heterocigoto) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 27 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 27), denominado marcador VSP3; y el genotipo GG (homocigoto) o AG (heterocigoto) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 29 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 29), denominado VSP4. VSP3 y VSP4 se encuentran en otras accesiones resistentes a Nr: 1.

10 También se proporcionan procedimientos para hacer y/o identificar y/o seleccionar plantas de lechuga cultivada que comprenden una introgresión de lechuga silvestre, como de *L. virosa*, en el cromosoma 6 (que comprende el QTL6.1) y/o el cromosoma 7 (que comprende el QTL 7.1), y se describen procedimientos para transferir los QTL a diferentes líneas o variedades de plantas de lechuga cultivada, especialmente a líneas o variedades de lechuga susceptibles a Nr: 1.

15 Definiciones

El artículo indefinido "un" o "una" no excluye la posibilidad de que esté presente más de un elemento, a menos que el contexto requiera claramente que haya uno y sólo uno de los elementos. Así, el artículo indefinido "un" o "una" suele significar "al menos uno".

20 La "variedad vegetal" es un grupo de plantas dentro del mismo taxón botánico del grado más bajo conocido, que (independientemente de que se cumplan o no las condiciones para el reconocimiento de los derechos de obtentor) puede definirse sobre la base de la expresión de los caracteres que resultan de un determinado genotipo o de una combinación de genotipos, puede distinguirse de cualquier otro grupo de plantas por la expresión de al menos uno de esos caracteres, y puede considerarse como una entidad, porque puede multiplicarse sin ningún cambio. Por lo tanto, el término "variedad vegetal" no puede utilizarse para designar un grupo de plantas, aunque sean del mismo tipo, si todas se caracterizan por la presencia de uno o dos o tres loci o genes (o de características fenotípicas debidas a estos loci o genes específicos), pero que, por lo demás, pueden diferir enormemente entre sí en cuanto a los demás loci o genes del genoma.

30 "Lechuga" o "lechuga cultivada" o "*Lactuca sativa* cultivada" se refiere en el presente documento a las plantas de la especie *Lactuca sativa* L. (o a las semillas a partir de las cuales se pueden cultivar las plantas), y a las partes de dichas plantas, criadas por el ser humano para la alimentación y que tienen buenas características agronómicas. Esto incluye cualquier lechuga cultivada, como líneas de reproducción (por ejemplo, líneas de retrocruzamiento, líneas endogámicas), cultivares y variedades de cualquier tipo. En general, se distinguen los tipos de lechuga con rúbrica y sin rúbrica. Los tipos con cabeza incluyen, por ejemplo, los tipos crisphead, butterhead y romaine (cos), mientras que los tipos sin cabeza incluyen los tipos de hoja. Las plantas de lechuga cultivadas no son plantas de "lechuga silvestre" o "*Lactuca silvestre*", es decir, plantas que generalmente tienen un rendimiento y unas características agronómicas mucho más pobres que las plantas cultivadas y que, por ejemplo, crecen de forma natural en poblaciones silvestres.

35 Las accesiones de "lechuga silvestre" o "*Lactuca silvestre*" se refieren a plantas de especies distintas de la *Lactuca sativa* cultivada, como *Lactuca virosa*, *Lactuca serriola*, *Lactuca saligna*, *Lactuca perennis* y otras. Preferentemente, dicha lechuga silvestre comprende o está formada por especies de *Lactuca* que son fértiles en cruz con *L. sativa*, opcionalmente con la ayuda de técnicas de rescate de embriones (véase Maisonneuve 1987, Agronomique 7: 313-319 y Maisonneuve et al. 1995, Euphytica 85:281-285) y/o técnicas de duplicación de cromosomas (Thompson y Ryder 1961, US Dept Agric Tech Bul. 1224), o procedimientos por los que se pueden transferir genes a *L. sativa* a través de una especie puente, como *L. serriola* (Eenink et al. 1982, *supra*).

40 45 Tal como se utiliza en el presente documento, el término "planta" incluye la semilla (a partir de la cual se puede cultivar la planta), la planta entera o cualquier parte, como órganos de la planta (por ejemplo, hojas cosechadas o no, etc.), células vegetales, protoplastos vegetales, cultivos de células o tejidos vegetales, callos vegetales, grupos de células vegetales, trasplantes vegetales, plántulas, células vegetales intactas en plantas, clones vegetales o micropropagaciones, o partes de plantas (por ejemplo, tejidos u órganos cosechados), como esquejes de plantas, propagaciones vegetativas, embriones, polen, óvulos, flores, hojas, cabezas, semillas (producidas en la planta después de la autofecundación o la fecundación cruzada), plantas reproducidas clonalmente, raíces, tallos, puntas de raíces, injertos, partes de cualquiera de ellos y similares, o derivados de los mismos, preferiblemente que tengan la misma composición genética (o una composición genética muy similar) que la planta de la que se obtiene. También se incluye cualquier fase de desarrollo, como plántulas, esquejes antes o después de enraizar, plantas maduras y/o inmaduras u hojas maduras y/o inmaduras. Cuando se habla de "semillas de una planta", se refiere a las semillas a partir de las cuales se puede cultivar la planta o a las semillas producidas en la planta, tras la autofecundación o la fecundación cruzada.

Se puede distinguir entre "células somáticas" y "células reproductoras", siendo las células somáticas las que no son gametos (por ejemplo, óvulos y polen), células germinales y gametocitos. Los gametos, las células germinales y los gametocitos son "células reproductoras".

- 5 "Cultivo de tejidos" o "cultivo celular" se refiere a una composición *in vitro* que comprende células aisladas del mismo tipo o de un tipo diferente o una colección de dichas células organizadas en un tejido vegetal. Los cultivos de tejidos y células de lechuga, y la regeneración de plantas de lechuga a partir de ellos, es bien conocida y ampliamente publicada (véase, por ejemplo Teng et al., HortScience. 1992, 27(9): 1030-1032 Teng et al., HortScience. 1993, 28(6): 669-1671, Zhang et al., Journal of Genetics and Breeding. 1992, 46(3): 287-290).
- 10 "Material vegetal cosechado" se refiere en el presente documento a las partes de la planta (por ejemplo, hojas, partes de hojas o cabezas desprendidas de la planta entera) que han sido recogidas para su posterior almacenamiento y/o uso posterior.
- 15 "Semillas cosechadas" se refiere a las semillas cosechadas de una línea o variedad, por ejemplo, producidas tras la autofecundación o la fecundación cruzada y recolectadas.
- 20 "Hojas cosechadas" o "cabezas cosechadas", tal y como se utiliza en el presente documento, se refiere a las hojas de lechuga, o a las partes de las hojas o cabezas, es decir, a la planta sin el sistema de raíces, por ejemplo, sustancialmente todas las hojas (cosechadas). Las hojas pueden estar enteras o cortadas en partes.
- 25 "Progenie" o "progenie" o "descendencia", tal y como se utiliza en el presente documento, se refiere a la descendencia, o a la primera y a todas las demás descendencias derivadas de (obtenidas de) (derivables de u obtenibles de) una planta divulgada en el presente documento que comprende (retiene) el uno o más QTL que confieren resistencia a Nr: 1 en forma homocigota o heterocigota y/o el fenotipo de resistencia a Nr: 1 descrito en este documento. La progenie puede derivarse por regeneración de cultivos celulares o de tejidos, o de partes de una planta, o por autofecundación de una planta, o por producción de semillas de una planta. En otras realizaciones, la progenie también puede abarcar las plantas de lechuga derivadas del cruce de al menos una planta de lechuga con otra planta de lechuga de la misma u otra variedad o línea (de reproducción), o plantas de *Lactuca* silvestres, retrocruzamiento, inserción de un locus en una planta o mutación. Una progenie es, por ejemplo, una progenie de primera generación, es decir, la progenie se deriva directamente de, se obtiene de, se puede obtener de o se puede derivar de la planta madre por, por ejemplo, procedimientos tradicionales de reproducción (autofecundación y/o cruce) o regeneración o transformación. Sin embargo, el término "progenie" abarca generalmente las generaciones posteriores, como la segunda, tercera, cuarta, quinta, sexta, séptima o más generaciones, es decir, las generaciones de plantas derivadas, obtenidas, obtenibles o derivables de la generación anterior mediante, por ejemplo, procedimientos tradicionales de cría, regeneración o técnicas de transformación genética. Por ejemplo, se puede producir una progenie de segunda generación a partir de una progenie de primera generación por cualquiera de los procedimientos mencionados anteriormente. También las plantas doblemente haploides son progenitoras.
- 30 35 Una "línea de plantas" o "línea de cría" se refiere a una planta y a su progenie que son altamente uniformes en su fenotipo. Tal y como se utiliza en el presente documento, el término "línea endogámica" se refiere a una línea de plantas que se ha autofecundado repetidamente y que es casi homocigota para todos los alelos. Así, una "línea endogámica" o "línea madre" se refiere a una planta que ha sido sometida a varias generaciones (por ejemplo, al menos 4, 5, 6, 7 o más) de endogamia, lo que da lugar a una línea de plantas con una gran uniformidad.
- 40 "F1, F2, F3, etc." se refiere a las generaciones consecutivas relacionadas que siguen a un cruce entre dos plantas o líneas parentales. Las plantas cultivadas a partir de las semillas producidas por el cruce de dos plantas o líneas se denominan generación F1. La autofecundación de las plantas F1 da lugar a la generación F2, etc.
- 45 "Híbrido" se refiere a las semillas cosechadas del cruce de una línea o variedad de plantas con otra línea o variedad de plantas, y las plantas o partes de plantas cultivadas a partir de dichas semillas.
- 50 La planta "híbrida F1" (o semilla híbrida F1) es la generación obtenida del cruce de dos líneas parentales no isogénicas. Por lo tanto, las semillas híbridas F1 son semillas de las que crecen plantas híbridas F1.
- 55 Un "híbrido interespecífico" se refiere a un híbrido producido al cruzar una planta de una especie, por ejemplo *L. sativa*, con una planta de otra especie, por ejemplo *L. virosa*.
- El "cruce" se refiere al apareamiento de dos plantas madre. Igualmente, la "polinización cruzada" se refiere a la fecundación por la unión de dos gametos de plantas diferentes.
- 50 La "autofecundación" se refiere a la autopolinización de una planta, es decir, a la unión de gametos de la misma planta.
- 55 El "retrocruzamiento" se refiere a un procedimiento de cría por el cual un rasgo, como uno o más QTL que confieren resistencia a Nr: 1, pueden transferirse de un fondo genético inferior (por ejemplo, una lechuga silvestre; también denominada "donante") a un fondo genético superior (también denominado "progenitor recurrente"), por ejemplo, la lechuga cultivada. Una descendencia de un cruce (por ejemplo, una planta F1 obtenida al cruzar una planta

silvestre, de lechuga resistente a Nr: 1 con una lechuga Nr:1-susceptible cultivada; o una planta F2 o F3, etc., obtenida de la autofecundación de la F1) se "retrocruzan" con el progenitor con el fondo genético superior, por ejemplo, con el progenitor cultivado, Nr:1-susceptible. Tras repetidos retrocruzamientos, el rasgo del fondo genético inferior se habrá incorporado al fondo genético superior. Los términos "gen convertido" o "planta de conversión" o "conversión de locus simple/doble/triple" en este contexto se refieren a plantas desarrolladas por retrocruzamiento en las que se recuperan esencialmente todas las características morfológicas y/o fisiológicas deseadas del progenitor recurrente además de uno o más QTL (por ejemplo, el QTL6.1, el QTL7.1 y/o el QTL7.2 que confieren resistencia a Nr:1) transferidos del progenitor donante.

La expresión "técnicas tradicionales de fitomejoramiento" abarca en el presente documento el cruce, el retrocruzamiento, la autofecundación, la selección, la duplicación de cromosomas, la producción de dobles haploides, el rescate de embriones, el uso de especies puente, la fusión de protoplastos, la selección asistida por marcadores, el mejoramiento por mutación, etc. tal y como lo conoce el obtentor (es decir, procedimientos distintos de la modificación genética/transformación/procedimientos transgénicos), mediante los cuales, por ejemplo, pueden obtenerse, identificarse, seleccionarse y/o transferirse uno o más QTL que confieren resistencia a Nr:1, denominados en el presente documento QTL6.1, QTL7.1 y/o QTL7.2.

"Regeneración" se refiere al desarrollo de una planta a partir de un cultivo celular o de tejidos *in vitro* o de la propagación vegetativa.

"Propagación vegetativa", "reproducción vegetativa" o "propagación clonal" se utilizan indistintamente en el presente documento y significan el procedimiento de tomar parte de una planta y permitir que esa parte de la planta forme al menos raíces, donde la parte de la planta es, por ejemplo definida como o derivada de (por ejemplo, cortando) la hoja, el polen, el embrión, el cotiledón, el hipocótilo, las células, los protoplastos, la célula meristemática, la raíz, la punta de la raíz, el pistilo, la antera, la flor, la punta del brote, el brote, el tallo, el fruto y el pecíolo. Cuando una planta entera se regenera por propagación vegetativa, también se denomina "propagación vegetativa" o "planta de propagación vegetativa".

La "planta convertida (de conversión) de locus único (o doble o triple)" se refiere a las plantas desarrolladas mediante técnicas de fitomejoramiento que comprenden o consisten en el retrocruzamiento, en las que se recuperan esencialmente todas las características morfológicas y/o fisiológicas deseadas de una planta de lechuga, además de las características del locus único (o de dos o tres loci) que se han transferido a la planta mediante, por ejemplo, la técnica de retrocruzamiento.

El "transgén" o "gen químérico" se refiere a un locus genético que comprende una secuencia de ADN que se ha introducido en el genoma de una planta de lechuga por transformación. Una planta que contiene un transgén integrado de forma estable en su genoma se denomina "planta transgénica".

"Sustancialmente equivalente" o "no significativamente diferente" o "no significativamente diferente desde el punto de vista estadístico" se refiere a un carácter que, cuando se compara, por ejemplo, entre dos líneas o variedades vegetales, es equivalente o casi idéntico. En otras palabras, que un carácter sea "sustancialmente equivalente" entre dos líneas o variedades vegetales significa que el valor medio de dicho carácter difiere menos del 10 % (por ejemplo, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 % o menos) y la significación estadística de esta diferencia no tiene una  $p \geq 0,05$  utilizando el ANOVA.

"Media" se refiere en el presente documento a la media aritmética. El término "media" se refiere a la media aritmética de varias mediciones. El experto entiende que el fenotipo de una línea o variedad vegetal depende en cierta medida de las condiciones de cultivo y que, por lo tanto, se miden las medias aritméticas de al menos 10, 15, 20, 30, 40, 50 o más plantas, preferentemente en diseños experimentales aleatorios con varias réplicas y plantas de control adecuadas cultivadas en las mismas condiciones en el mismo experimento.

"Estadísticamente significativa" o "estadísticamente significativa" diferente o "significativamente" diferente se refiere a una característica de una línea o variedad de plantas, como resistencia a Nr: 1, que, cuando se compara con un control adecuado (por ejemplo, en este caso la línea de control genético que carece de los QTL, o una variedad de control susceptible a Nr: 1, como Mafalda) muestran una diferencia estadísticamente significativa en ese carácter (por ejemplo, el valor  $p$  es inferior a 0,05,  $p < 0,05$ , utilizando ANOVA) con respecto al control (media del). Así, por ejemplo, una línea de plantas o variedad o genotipo que tiene en promedio "significativamente menos" áfidos o "significativamente menos" áfidos que el control, es una planta en la que la diferencia en el número promedio de áfidos es estadísticamente significativa con respecto a la planta de control.

El "pulgón de la lechuga" se refiere a los pulgones de la especie *Nasonovia ribisnigri*.

"Biotipo Nr:0" se refiere al biotipo de pulgón de la lechuga contra el que el gen *Nr* de IVT280 proporciona resistencia, es decir, los pulgones de la lechuga de este biotipo son incapaces de alimentarse y reproducirse en las variedades que comprenden el gen *Nr*, como Mafalda (Nunhems), Barcelona (Nunhems) u otras.

"Biotipo Nr: 1" se refiere al biotipo de pulgón de la lechuga contra el que el gen *Nr* de IVT280 no proporciona resistencia. Así, los pulgones de la lechuga de este biotipo pueden alimentarse y reproducirse en las variedades y líneas que incluyen el gen *Nr*, como Mafalda (Nunhems), Barcelona (Nunhems) u otras.

5 Cuando se trata de pruebas de resistencia realizadas en condiciones ambientales controladas (por ejemplo, en celdas climáticas), preferentemente las colonias clonales de áfidos individuales y seleccionados del biotipo Nr:0 o Nr: 1 son referidos. En el presente documento también se denominan "aislados" de pulgón.

10 Se dice que una línea, variedad o accesiones de plantas de lechuga silvestres o cultivadas es una "planta resistente a Nr:0", o una "planta resistente al biotipo Nr:0", o una planta que tiene "resistencia a Nr:0", o un "fenotipo de resistencia a Nr:0", si la reproducción (número medio de áfidos por planta, contados periódicamente, por ejemplo después de unos 7, 14, 21, 28, 35 y/o más días, tras la infestación con pulgones del biotipo Nr:0) del biotipo Nr:0 se reduce de forma estadísticamente significativa en comparación con las plantas de control que carecen de genes de resistencia al pulgón de la lechuga, como las variedades susceptibles Salinas (sinónimo Saladin; desarrollado originalmente por el obtentor Ryder E.J., USDA, ARS, California, EE.UU.), u otras. Una reducción significativa de la reproducción del biotipo Nr:0 puede determinarse utilizando, por ejemplo, una prueba de invernadero o una prueba de campo en jaula, como se conoce en la técnica, por ejemplo, como se describe en McCreight y Liu, 2012, HortScience 47(2), en Materiales y Procedimientos, u otros. La prueba de invernadero o la prueba de campo en jaula puede ser de libre elección (los áfidos pueden alimentarse y reproducirse en varias líneas o variedades de plantas) y/o de no elección (los áfidos sólo pueden alimentarse y reproducirse en una línea o variedad de plantas). Como alternativa, se pueden realizar pruebas en campo abierto, en las que se vigila la infestación natural de los controles susceptibles, como la variedad Salinas (sinónimo Saladin), y cuando la infestación en el control es numerosa, se cuentan los áfidos en las plantas de prueba y en los controles. El término abarca tanto la "resistencia parcial Nr:0" (como en PI491093 descrita en McCreight y Liu, 2012) como la "resistencia completa Nr:0" (como en IVT280, véase ídem McCreight y Liu 2012). En las plantas completamente resistentes a Nr:0 prácticamente no hay áfidos del biotipo Nr:0 que se alimenten y reproduzcan en los puntos de tiempo semanales medidos después de la inoculación o de la infestación.

15 Se dice que una línea, variedad o accesiones de plantas de lechuga silvestres o cultivadas es "una planta resistente a Nr: 1", o una "planta resistente contra el biotipo Nr:1", o una planta que tiene "resistencia a Nr:1", o un "fenotipo de resistencia a Nr:1", o una "planta que tiene una susceptibilidad significativamente reducida", o una "resistencia significativamente mejorada", si el número medio de áfidos del biotipo Nr:1 por planta, contado en uno o más puntos de tiempo después de la infestación con áfidos del biotipo Nr:1 (por ejemplo por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o más semanas después del trasplante de las plántulas en el campo; y/o después de que las plantas hayan alcanzado la fase de 3-4 hojas verdaderas y posteriormente, es decir, cuando las plantas han alcanzado el 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o 100% del tamaño adulto final) se reduce de forma estadísticamente significativa en comparación con las plantas de control que carecen de genes de resistencia al pulgón de la lechuga (como la variedad Salinas (sinónimo Saladin)) y/o en comparación con las plantas de control que tienen el gen de resistencia a *Nr*, como la variedad Mafalda (Nunhems) y/o el control genético que carece del fragmento o fragmentos de introgresión pero que, por lo demás, es genéticamente idéntico o muy similar a la planta que contiene el fragmento o fragmentos de introgresión. En un aspecto, una reducción significativa se refiere a que el número medio de áfidos en la planta resistente a Nr:1 es como máximo del 50%, 49%, 48%, 47%, 45%, 40% preferiblemente como máximo del 40%, preferiblemente como máximo del 30%, 20% o 10%, más preferiblemente como máximo del 5%, 3%, 2% o 1% del número medio de áfidos encontrado en una variedad susceptible a Nr:1, como la variedad Mafalda (u otras variedades susceptibles a Nr:1 que comprenden el gen *Nr*), o en el control genético, cuando se cultivan en las mismas condiciones. En una realización, las plantas están libres o prácticamente libres (menos de una media de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 pulgones por línea o variedad de planta) de áfidos Nr: 1. La resistencia a Nr:1 puede determinarse en ensayos de resistencia a Nr:1 como se define y describe en los Ejemplos.

20 Un "ensayo de resistencia a Nr:1" puede ser un ensayo de no elección (los áfidos sólo pueden alimentarse y reproducirse en una línea o variedad de plantas) y/o un ensayo de (libre) elección, como por ejemplo se describe en los Ejemplos. Las pruebas de elección o no elección pueden realizarse en entornos controlados, como celdas climáticas, o en el campo (campo abierto para las pruebas de elección o campo enjaulado para las de no elección). 25 Las pruebas de elección de resistencia se refieren a las pruebas en las que los áfidos pueden elegir entre diferentes genotipos de plantas para alimentarse y reproducirse. En general, las pruebas de elección se utilizan para identificar la resistencia antixenosis (no preferente), es decir, la resistencia causada por factores que hacen que un genotipo de la planta sea menos atractivo. Las pruebas de resistencia sin elección se refieren a las pruebas en las que los áfidos no pueden elegir entre diferentes genotipos de plantas para alimentarse y reproducirse, sino que sólo se les permite alimentarse y reproducirse en un genotipo. Esto permite detectar la antibiosis. En las plantas de control susceptibles a Nr:1, como Mafalda, el pulgón es capaz de reproducirse a más de unos 50, 100, 150, 200, 250, 300 o más pulgones. La resistencia efectiva en condiciones de no elección afecta a los propios insectos, por ejemplo, mueren, producen menos descendencia o crecen más lentamente.

30 Un elemento genético, un locus, un fragmento de introgresión o un gen o alelo que confiere un rasgo (como uno o más QTL que confieren resistencia contra *N. ribisnigri* biotipo Nr:1) se dice que es "obtenible de" o puede ser "obtenido de" o "derivable de" o puede ser "derivado de" o "tal como está presente en" o "tal como se encuentra en"

una planta o semilla si puede ser transferido de la planta o semilla en la que está presente a otra planta o semilla en la que no está presente (como una línea o variedad) utilizando técnicas tradicionales de fitomejoramiento sin dar lugar a un cambio fenotípico de la planta receptora aparte de la adición del rasgo (resistencia a Nr:1) conferido por el elemento genético, locus, fragmento de introgresión, gen o alelo. Los términos se utilizan indistintamente y el elemento genético, el locus, el fragmento de introgresión, el gen o el alelo pueden transferirse a cualquier otro fondo genético que carezca del rasgo. No sólo se pueden utilizar las semillas depositadas que comprenden el elemento genético, el locus, el fragmento de introgresión, el gen o el alelo, sino también la progenie/descendencia de dichas semillas que han sido seleccionadas para retener el elemento genético, el locus, el fragmento de introgresión, el gen o el alelo, y que se incluyen en el presente documento, como las variedades comerciales desarrolladas a partir de las semillas depositadas o de sus descendientes. El experto puede determinar si una planta (o el ADN genómico, la célula o el tejido de una planta) comprende el mismo elemento genético, locus, fragmento de introgresión, gen o alelo que se obtiene de las semillas depositadas utilizando una o más técnicas conocidas en la técnica, como ensayos fenotípicos, secuenciación de todo el genoma, análisis de marcadores moleculares (por ejemplo, utilizando uno o más o todos los marcadores divulgados en el presente documento), mapeo de rasgos, pintura cromosómica, pruebas de alelismo y similares, o combinaciones de técnicas.

El término "alelo(s)" significa cualquiera de una o más formas alternativas de un gen en un locus particular, todos los cuales alelos se relacionan con un rasgo o característica en un locus específico. En una célula diploide de un organismo, los alelos de un determinado gen se encuentran en un lugar específico, o locus (loci en plural) en un cromosoma. Un alelo está presente en cada cromosoma del par de cromosomas homólogos. Una especie vegetal diploide puede comprender un gran número de alelos diferentes en un locus concreto. Pueden ser alelos idénticos del gen (homocigotos) o dos alelos diferentes (heterocigotos).

El término "gen" se refiere a una secuencia de ADN (genómico) que comprende una región (región transcrita), que se transcribe en una molécula de ARN mensajero (ARNm) en una célula, y una región reguladora vinculada operativamente (por ejemplo, un promotor). Los diferentes alelos de un gen son, por lo tanto, diferentes formas alternativas del gen, que pueden consistir, por ejemplo, en diferencias en uno o más nucleótidos de la secuencia de ADN genómico (por ejemplo, en la secuencia del promotor, las secuencias de los exones, las secuencias de los intrones, etc.), el ARNm y/o la secuencia de aminoácidos de la proteína codificada.

La "prueba de alelismo" se refiere a una prueba genética por la que se puede comprobar si dos fenotipos, por ejemplo, dos resistencias a Nr: 1 observadas en dos líneas o variedades de plantas están determinadas por el mismo gen o por genes diferentes. Por ejemplo, las plantas que se van a analizar se cruzan entre sí, la F1 se autofecunda y se determina la segregación de los fenotipos entre la progenie F2. La relación de segregación indica si los genes son alélicos.

El término "locus" (en plural loci) significa un lugar o lugares específicos o un sitio en un cromosoma donde, por ejemplo, se encuentra un gen o un marcador genético. El locus de resistencia a Nr: 1 (o locus/loci que confiere resistencia a Nr1) es/son, por lo tanto, la localización en el genoma de la lechuga silvestre, especialmente la accesión de *Lactuca virosa*, como (pero no limitada a) NCIMB 42086, donde los QTL que confieren resistencia al Nr:1 se encuentran en el cromosoma 6 (QTL6.1) y/o en el cromosoma 7 (QTL7.1 y/o QTL7.2). En las lechugas cultivadas divulgadas en el presente documento, uno o más QTL que confieren resistencia a Nr: 1 se introgresan a partir de accesiones de lechuga silvestre que comprenden uno o más de los QTL, como la accesión silvestre de *L. virosa* depositada bajo los números de acceso NCIMB 42086.

Un "locus de rasgo cuantitativo", o "QTL" es un locus cromosómico que codifica para uno o más alelos que afectan a la expresividad de un fenotipo de distribución continua (cuantitativa). Los loci de rasgos cuantitativos que confieren resistencia se denominan en el presente documento QTL6.1, QTL7.1 y QTL7.2.

"Genoma de la lechuga" y "posición física en el genoma de la lechuga" y "cromosoma 6" y/o en el "cromosoma 7" se refiere al genoma físico de la lechuga cultivada, world wide web en lgr.genomecenter.ucdavis.edu (Lettuce version 3.2 Database, que comprende el cromosoma 6, designado Lsat\_1\_v4\_lg6, y el cromosoma 7, designado Lsat\_1\_v4\_lg7), y los cromosomas físicos y la posición física en los cromosomas. Así, por ejemplo, el SNP\_01 se encuentra en el nucleótido (o "base") situado físicamente en el nucleótido 60.688.939 del cromosoma 6, que tiene un tamaño físico de 0 a 244,7 Mb. Asimismo, el SNP\_08 se localiza en el nucleótido (o "base") situado en el 72.772.104 del cromosoma 7, cuyo cromosoma tiene un tamaño físico de 0 a 242,9 Mb.

La "distancia física" entre loci (por ejemplo, entre marcadores moleculares y/o entre marcadores fenotípicos) en el mismo cromosoma es la distancia física real expresada en bases o pares de bases (pb), kilobases o kilopares de bases (kb) o megabases o megapares de bases (Mb).

La "distancia genética" entre loci (por ejemplo, entre marcadores moleculares y/o entre marcadores fenotípicos) en el mismo cromosoma se mide por la frecuencia de cruce, o frecuencia de recombinación (RF) y se indica en centimorgans (cM). Un cM corresponde a una frecuencia de recombinación del 1%. Si no se encuentran recombinantes, el RF es cero y los loci están muy cerca físicamente o son idénticos. Cuanto más separados estén dos loci, mayor será la RF.

"Fragmento de introgresión" o "segmento de introgresión" o "región de introgresión" se refiere a un fragmento cromosómico (o parte o región cromosómica) que se ha introducido en otra planta de la misma especie o de una especie relacionada por medio de cruces o técnicas tradicionales de reproducción, como el retrocruzamiento, es decir, el fragmento introgresado es el resultado de los procedimientos tradicionales de reproducción a los que se refiere el verbo "introgresar" (como el retrocruzamiento). En la lechuga, las accesiones de lechuga silvestre pueden utilizarse para introgresar fragmentos del genoma silvestre (por ejemplo, *L. virosa*) en el genoma de la lechuga cultivada, *L. sativa*. Dicha planta de lechuga cultivada tiene, pues, un "genoma de *L. sativa* cultivada", pero comprende en el genoma un fragmento (o dos o tres fragmentos) de una lechuga silvestre, por ejemplo, un fragmento de introgresión (o dos o tres) de un genoma de *Lactuca* silvestre relacionado, como *L. virosa*. Se entiende que el término "fragmento de introgresión" nunca incluye un cromosoma completo, sino sólo una parte de un cromosoma. El fragmento de introgresión puede ser grande, por ejemplo incluso la mitad de un cromosoma, pero es preferiblemente más pequeño, como unos 80Mb, 74Mb, 73Mb, 70Mb, 50Mb, 30Mb, 20Mb, 15 Mb o menos, como unos 10 Mb o menos, unos 9 Mb o menos, unos 8 Mb o menos, unos 7 Mb o menos, unos 6 Mb o menos, unos 5 Mb o menos, unos 4 Mb o menos, unos 3 Mb o menos, unos 2 Mb o menos, unos 1 Mb (equivale a 1.000.000 pares de bases) o menos, o unos 05 Mb (equivale a 500.000 pares de bases) o menos, como unos 200.000 pb (equivale a 200 pares de bases) o menos, unos 100.000 pb (100 kb) o menos, unos 50.000 pb (50 kb) o menos, unos 25.000 pb (25 kb) o menos.

La "homogeneidad" o "uniforme" se refiere a las características genéticas y fenotípicas de una línea o variedad vegetal. Las líneas consanguíneas son genéticamente muy uniformes, ya que se producen mediante varias generaciones de endogamia.

El término "alelo-Nr:1" o "alelo de resistencia a Nr:1", se refiere a un alelo encontrado en el locus *QTL6.1* o *QTL7.1* o *QTL7.2* que, en un aspecto, se proyecta en la lechuga cultivada (en el cromosoma 6 y/o 7 de *L. sativa* cultivada) desde una lechuga silvestre, especialmente desde una accesión de *L. virosa*. El término "alelo-Nr:1", por lo tanto, también abarca los alelos-Nr:1 obtenidos de diferentes accesiones de lechuga silvestre.

Cuando uno o dos alelos Nr:1 están presentes en un locus específico del genoma (es decir, en forma heterocigótica u homocigótica, respectivamente), la línea o variedad de la planta tiene una resistencia a Nr:1 significativamente mayor en comparación con el control genético que carece del QTL. En la planta de lechuga cultivada que carece del fragmento de introgresión, el alelo de *L. sativa* que se encuentra en el mismo locus del cromosoma 6 y/o 7 se denomina en el presente documento alelo "tipo silvestre" (*wt*). Así, una lechuga cultivada susceptible a Nr:1 y que carece de los QTL en los cromosomas 6 y 7 se designa *wt/wt*, mientras que las plantas *QTL6.1/wt/y QTL7.1/wt* o *QTL6.1/wt/y QTL7.2/wt*, y *QTL6.1/y QTL7.1/y QTL7.1/y QTL7.2*, son plantas de lechuga cultivadas que poseen los QTL en forma heterocigota u homocigota, respectivamente. El genotipo de los marcadores SNP proporcionados en el presente documento también es indicativo del genotipo de tipo silvestre o del fragmento de introgresión que comprende los QTL en forma homocigótica o heterocigótica. Por ejemplo, el genotipo del SNP\_01 indicativo del *QTL6.1* es "AT" (indicativo del *QTL6.1/wt*) o "AA" (indicativo del *QTL6.1/y QTL6.1*) mientras que el genotipo indicativo del tipo silvestre es "TT" (*wt/wt*). Véase el resto de SNPs en este documento. Por lo tanto, cuando se hace referencia a un marcador SNP en este documento o a un genotipo SNP, se refiere al genotipo del marcador indicativo del fragmento de introgresión que comprende el QTL que confiere resistencia a Nr: 1 (en forma homocigota o heterocigota).

Las secuencias "variantes" u "ortólogas" o "variantes de *QTL6.1*, *QTL7.1* o *QTL7.2*" se refieren a QTL (*QTL6.1*, *QTL7.1* o *QTL7.2*), o fragmentos de introgresión que los comprenden, que se derivan de plantas de lechuga silvestre diferentes (especialmente de plantas o accesiones de *L. virosa* diferentes) que los *QTL6.1*, *QTL7.1* y *QTL7.2* (y la región genómica que los comprende) presentes en NCIMB42086, pero cuyas variantes comprenden uno o más o todos los SNP vinculados a *QTL6.1*, *QTL7.1* y/o *QTL7.2* y en las que la secuencia genómica variante comprende una identidad de secuencia sustancial con el SEQ ID NO: que comprende el SNP (cualquier de SEQ ID NO: 1-22, SNP1.23, SNP2.24, SNP17.25, VSP1 a VSP4), es decir, al menos un 85%, 90%, 95%, 98%, 99% de identidad de secuencia o más. Así, cuando se hace referencia en el presente documento a un determinado genotipo SNP en una secuencia genómica específica (seleccionada de SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 22, SNP1.23, SNP2.24, SNP17.25, VSP1 a VSP4), esto abarca también el genotipo del SNP en variantes de la secuencia genómica, es decir, el genotipo del SNP en una secuencia genómica que comprende al menos el 85%, 90%, 95%, 98%, 99% de identidad de secuencia o más con la secuencia referida (seleccionada de SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 22, SNP1.23, SNP2.24, SNP17.25, VSP1 a VSP4). Por lo tanto, cualquier referencia en el presente documento a cualquiera de los SEQ ID NO: 1 a 22, SNP1.23, SNP2.24, SNP17.25, VSP1 a VSP4, en un aspecto también abarca una variante de cualquiera de las SEQ ID NO: 1 a 22, SNP1.23, SNP2.24, SNP17.25, VSP1 a VSP4, dicha variante comprende al menos el 85%, 90%, 95%, 98%, 99% de identidad de secuencia o más con dicha secuencia.

El "control genético" es una línea, variedad o híbrido de lechuga que tiene el mismo genoma cultivado o uno muy similar al de la planta de lechuga cultivada que comprende la introgresión en el cromosoma 6 (*QTL6.1*) y/o 7 (*QTL7.1* y/o *QTL7.2*), excepto que carece de dichas introgresiones en los cromosomas 6 y 7, es decir, los cromosomas 6 y 7 son de "tipo silvestre" (*wt/wt*), es decir, el genoma de la lechuga cultivada.

El término "ensayo de marcadores" se refiere a un ensayo de marcadores moleculares que puede utilizarse para comprobar si en el cromosoma 6 y/o 7 de *L. sativa* cultivada está presente una introgresión desde una lechuga

silvestre cuyo fragmento de introgresión comprende el QTL que confiere resistencia a Nr: 1 (QTL6.1 y/o QTL7.1 y/o QTL7.2, o una variante de los mismos) (o si una lechuga silvestre comprende el QTL6.1 y/o el QTL7.1 y/o el QTL7.2 o variantes de los mismos en su genoma), determinando el genotipo de uno o más marcadores vinculados al QTL6.1 (o una variante), por ejemplo, el genotipo de uno o más marcadores SNP seleccionados entre el SNP\_01 y el SNP\_07, y/o cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre (especialmente *L. virosa*) entre los marcadores SNP\_01 y SNP\_07, y/o dentro de 7cM o dentro de 5cM de cualquiera de estos marcadores, y/o dentro de 5Mb, 3Mb, 2Mb, 1 Mb, 0,5 Mb, 0,1Mb, 50kb, 20kb o menos de cualquiera de estos marcadores; alternativamente, determinando el genotipo de uno o más marcadores vinculados al QTL6.1 (o una variante), por ejemplo, el genotipo de uno o más marcadores SNP seleccionados entre SNP1.23, SNP\_02, SNP2.24 y SNP\_03 (opcionalmente también VSP1 o VSP3), y/o cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre (especialmente *L. virosa*) entre los marcadores SNP SNP1.23, SNP\_02, SNP2.24 y SNP\_03 (opcionalmente también VSP1 o VSP3), y/o dentro de 7cM o dentro de 5cM de cualquiera de estos marcadores, y/o dentro de 12Mb, 10Mb, 5Mb, 3Mb, 2Mb, 1 Mb, 0,5 Mb, 0,1Mb, 50kb, 20kb o menos de cualquiera de estos marcadores; y/o el genotipo de uno o más marcadores vinculados al QTL7.1 (o una variante), por ejemplo el genotipo de uno o más marcadores SNP seleccionados de SNP\_15 a SNP\_22, y/o cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre entre los marcadores SNP\_15 y SNP\_22, y/o dentro de 7cM o dentro de 5cM de cualquiera de estos marcadores, y/o dentro de 5Mb, 3Mb, 2Mb, 1 Mb, 0,5 Mb, 0,1Mb, 50kb, 20kb o menos de cualquiera de estos marcadores; alternativamente, determinando el genotipo de uno o más marcadores vinculados al QTL7.1 (o una variante), por ejemplo el genotipo de uno o más marcadores SNP seleccionados entre SNP\_17, SNP\_17.25, SNP\_18 y SNP\_19 (opcionalmente también VSP2 o VSP4), y/o cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre (especialmente *L. virosa*) entre los marcadores SNP\_17, SNP\_17.25, SNP\_18 y SNP\_19 (opcionalmente también VSP2 o VSP4), y/o dentro de 7cM o dentro de 5cM de cualquiera de estos marcadores, y/o dentro de 12Mb, 10Mb, 5Mb, 3Mb, 2Mb, 1 Mb, 0,5 Mb, 0,1Mb, 50kb, 20kb o menos de cualquiera de estos marcadores; y/o el genotipo de uno o más marcadores vinculados al QTL7.2 (o una variante), por ejemplo el genotipo de uno o más marcadores SNP seleccionados de SNP\_08 a SNP\_14, y/o cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre entre los marcadores SNP\_08 y SNP\_14, y/o dentro de 7cM o dentro de 5cM de cualquiera de estos marcadores, y/o dentro de 5Mb, 3Mb, 2Mb, 1 Mb, 0,5 Mb, 0,1Mb, 50kb, 20kb o menos de cualquiera de estos marcadores. Un marcador "entre" dos marcadores se encuentra físicamente entre los marcadores en el cromosoma.

Un "cromosoma recombinante" se refiere a un cromosoma que tiene una nueva composición genética que surge a través del cruce entre cromosomas homólogos, por ejemplo, un "cromosoma recombinante 6" o un "cromosoma recombinante 7", es decir, un cromosoma 6 o 7 que no está presente en ninguna de las plantas parentales y que surgió a través de un evento raro de cruce entre cromosomas homólogos de un par de cromosomas 6 o 7, respectivamente. En el presente documento, por ejemplo, se proporcionan los cromosomas de lechuga recombinantes 6 y 7, cada uno de los cuales comprende un QTL de resistencia a Nr: 1.

La "selección asistida por marcadores" o "MAS" es un proceso en el que se utiliza la presencia de marcadores moleculares, que están genéticamente ligados a un locus particular o a una región cromosómica concreta (por ejemplo, un fragmento de introgresión), para seleccionar plantas por la presencia del locus o región específicos (fragmento de introgresión). Por ejemplo, un marcador molecular vinculado genéticamente a un QTL de Nr: 1, puede utilizarse para detectar y/o seleccionar plantas de lechuga que comprendan el QTL de Nr: 1 en el cromosoma 6 y/o 7. Cuanto más cercano sea el enlace genético del marcador molecular al locus (por ejemplo, unos 7cM, 6cM, 5cM, 4cM, 3cM, 2cM, 1cM, 0,5cM o menos), menos probable será que el marcador se disocie del locus por recombinación meiótica. Del mismo modo, cuanto más cerca estén dos marcadores entre sí (por ejemplo, dentro de 7cM o 5cM, 4cM, 3cM, 2cM, 1cM o menos), menos probable será que los dos marcadores se separen entre sí (y más probable será que co-segreguen como una unidad).

Un marcador "dentro de 7cM o dentro de 5cM" de otro marcador se refiere a un marcador que mapea genéticamente dentro de la región de 7cM o 5cM que flanquea al marcador (es decir, a cualquier lado del marcador). Del mismo modo, un marcador situado dentro de 10 Mb, 5 Mb, 3 Mb, 2,5 Mb, 2 Mb, 1 Mb, 0,5 Mb, 0,4Mb, 0,3Mb, 0,2Mb, 0,1 Mb, 50kb, 20kb, 10kb, 5kb o menos de otro marcador se refiere a un marcador que está físicamente situado dentro de los 5 Mb, 3 Mb, 2,5 Mb, 2 Mb, 1 Mb, 0,5 Mb, 0,4Mb, 0,3Mb, 0,2Mb, 0,1 Mb, 50kb, 20kb, 10kb, 5kb o menos, de la región de ADN genómico que flanquea al marcador (es decir, cualquier lado del marcador).

El "LOD-score" (logaritmo (base 10) de las probabilidades) se refiere a una prueba estadística que se utiliza a menudo para el análisis de ligamiento en poblaciones animales y vegetales. La puntuación LOD compara la probabilidad de obtener los datos de la prueba si los dos loci (loci de marcadores moleculares y/o un locus de rasgo fenotípico) están realmente vinculados, con la probabilidad de observar los mismos datos por puro azar. Las puntuaciones LOD positivas favorecen la presencia de enlace y una puntuación LOD superior a 3,0 se considera una prueba de enlace. Una puntuación LOD de +3 indica una probabilidad de 1000 a 1 de que el enlace observado no se haya producido por casualidad.

Una "secuencia de ácido nucleico aislada" o "ADN aislado" se refiere a una secuencia de ácido nucleico que ya no se encuentra en el entorno natural del que fue aislada, por ejemplo, la secuencia de ácido nucleico en una célula huésped bacteriana o en el genoma nuclear o plastidial de una planta.

Una "célula huésped" o una "célula huésped recombinante" o "célula transformada" son términos que se refieren a una nueva célula individual (u organismo) que surge como resultado de la introducción de al menos una molécula de ácido nucleico en dicha célula. La célula huésped es preferentemente una célula vegetal o una célula bacteriana. La célula huésped puede contener el ácido nucleico como una molécula de replicación extracromosómica (episomal), o comprende el ácido nucleico integrado en el genoma nuclear o plastidial de la célula huésped, o como cromosoma introducido, por ejemplo, minicromosoma.

La "identidad de secuencia" y la "similitud de secuencia" pueden determinarse mediante la alineación de dos secuencias peptídicas o de dos nucleótidos utilizando algoritmos de alineación global o local. Las secuencias pueden considerarse "sustancialmente idénticas" o "esencialmente similares" cuando se alinean de forma óptima, por ejemplo, con los programas GAP o BESTFIT o con el programa "Needle" de Emboss (utilizando los parámetros por defecto, véase más adelante) y comparten al menos un determinado porcentaje mínimo de identidad de secuencia (como se define más adelante). Estos programas utilizan el algoritmo de alineación global de Needleman y Wunsch para alinear dos secuencias en toda su longitud, maximizando el número de coincidencias y minimizando el número de huecos. En general, se utilizan los parámetros por defecto, con una penalización de creación de huecos = 10 y una penalización de extensión de huecos = 0,5 (tanto para los alineamientos de nucleótidos como de proteínas). Para los nucleótidos la matriz de puntuación por defecto utilizada es DNAFULL y para las proteínas la matriz de puntuación por defecto es Blosum62 (Henikoff & Henikoff, 1992, PNAS 89, 10915-10919). Los alineamientos de secuencias y las puntuaciones de los porcentajes de identidad de secuencias pueden determinarse, por ejemplo, mediante programas informáticos, como EMBOSS, disponible en la red mundial en ebi.ac.uk/Tools/psa/emboss\_needle/. Alternativamente, la similitud o identidad de la secuencia puede determinarse mediante la búsqueda en bases de datos como FASTA, BLAST, etc., pero los resultados deben recuperarse y alinearse por pares para comparar la identidad de la secuencia. Dos proteínas o dos dominios proteicos, o dos secuencias de ácidos nucleicos tienen "identidad de secuencia sustancial" si el porcentaje de identidad de secuencia es de al menos el 85%, 90%, 95%, 98%, 99% o más (por ejemplo, al menos 99,1, 99,2 99,3 99,4, 99,5, 99,6, 99,7, 99,8, 99,9 o más (según lo determinado por Emboss "needle" utilizando parámetros por defecto, es decir, penalización por creación de huecos = 10, penalización por extensión de huecos = 0,5, utilizando la matriz de puntuación DNAFULL para ácidos nucleicos y Blosum62 para proteínas).

Cuando se hace referencia a una secuencia de ácido nucleico (por ejemplo, ADN o ADN genómico) que tiene una "identidad de secuencia sustancial con" una secuencia de referencia o que tiene una identidad de secuencia de al menos el 80%, por ejemplo, al menos el 85%, 90%, 95%, 98%, 99%, 99,2%, 99,5%, 99,9% de identidad de secuencia de ácido nucleico con una secuencia de referencia, en una realización dicha secuencia de nucleótidos se considera sustancialmente idéntica a la secuencia de nucleótidos dada y puede identificarse utilizando condiciones de hibridación estrictas. En otra realización, la secuencia de ácido nucleico comprende una o más mutaciones en comparación con la secuencia de nucleótidos dada, pero aún así puede identificarse utilizando condiciones de hibridación estrictas.

Las "condiciones estrictas de hibridación" pueden utilizarse para identificar secuencias de nucleótidos que son sustancialmente idénticas a una secuencia de nucleótidos determinada. Las condiciones estrictas dependen de la secuencia y serán diferentes en distintas circunstancias. Generalmente, las condiciones estrictas se seleccionan para que sean unos 5°C más bajas que el punto de fusión térmica (Tm) para las secuencias específicas a una fuerza iónica y un pH definidos. La Tm es la temperatura (bajo una fuerza iónica y un pH definidos) a la que el 50% de la secuencia objetivo se hibrida con una sonda perfectamente adaptada. Típicamente, se elegirán condiciones estrictas en las que la concentración de sal es de aproximadamente 0,02 molar a pH 7 y la temperatura es de al menos 60°C. La disminución de la concentración de sal y/o el aumento de la temperatura aumentan la rigurosidad. Las condiciones estrictas para las hibridaciones ARN-ADN (Northern blots que utilizan una sonda de, por ejemplo, 100 nt) son, por ejemplo, las que incluyen al menos un lavado en SSC 0,2X a 63°C durante 20 minutos, o condiciones equivalentes. Las condiciones estrictas para la hibridación ADN-ADN (Southern blots utilizando una sonda de, por ejemplo, 100nt) son, por ejemplo, las que incluyen al menos un lavado (normalmente 2) en SSC 0,2X a una temperatura de al menos 50°C, normalmente unos 55°C, durante 20 minutos, o condiciones equivalentes. Véase también Sambrook et al. (1989) y Sambrook y Russell (2001).

## 50 Figuras

Figura 1: A. Gráfico que muestra el número medio de pulgones (aislado alemán de Nr: 1) en la variedad de control susceptible Mafalda y en la NCIMB 42086 en un ensayo sin elección, a los 7, 14, 21, 28 y 35 días después de la inoculación. B. muestra el mismo gráfico que A., pero en una escala más detallada.

Figura 2: A. Gráfico que muestra el número medio de pulgones sobre NCIMB 42086 en una prueba de elección libre, a los 7, 14, 21, 28 y 35 días después de la inoculación. A. se refiere a un aislado de Nr: 1 alemán de la región de Pfalz, mientras que B. se refiere a un aislado de Nr: 1 francés de la zona de Perpignan.

Figura 3A: Gráfico esquemático (no a escala) de los cromosomas 6 y 7 de *L. sativa* que comprende un fragmento de introducción (ejemplificado por la barra de grasa, que puede ser más larga o más corta que la dibujada aquí) de *L. virosa* accesión NCIMB42086 en el cromosoma 6 (que comprende QTL6.1) y dos

fragmentos de introgresión de *L. virosa* de la accesión NCIMB42086 en el cromosoma 7 (que comprende QTL7.1 y QTL7.2), así como los marcadores SNP indicativos de los fragmentos de introgresión y su posición física en el genoma de la lechuga. El número de estrellas (\*) indica que la puntuación LOD es significativa (una estrella) o altamente significativa (dos o tres estrellas).

Figura 3B: Gráfico esquemático (no a escala) de los cromosomas 6 y 7 de *L. sativa* que comprende un fragmento de introgresión (barra gris) de una *L. virosa* silvestre (por ejemplo, de la accesión NCIMB42086) en el cromosoma 6 (que comprende el QTL6.1 o una variante del mismo) y en el cromosoma 7 (que comprende el QTL7.1 o una variante del mismo). El \* indica los marcadores SNP que son específicos para dos accesiones silvestres de *L. virosa*, los marcadores SNP VSP1 y VSP3 en el cromosoma 6 y VSP2 y VSP4 en el cromosoma 7 (por lo que VSP1 y VSP2 son específicos para una de las accesiones y VSP3 y VSP4 son específicos para la otra accesión).

Figura 4: Resultados del ensayo de campo sin elección realizado en Murcia, España, que muestra cero pulgones en NCIMB42086 en comparación con >300 pulgones en la variedad resistente Nr:0 Mafalda.

#### Descripción detallada

La presente divulgación describe una planta de lechuga cultivada, *Lactuca sativa*, que comprende uno o dos o tres QTL introgresados de la lechuga silvestre, en la que dichos QTL confieren resistencia contra biotipo 1 de *N. ribisnigri* (Nr: 1). En particular, la resistencia a Nr: 1 es conferida por un fragmento de introgresión en el cromosoma 6 de la lechuga cultivada (que comprende el QTL6.1) y/o el 7 (que comprende el QTL 7.1 y/o el QTL7.2), donde dicho fragmento de introgresión procede de una planta de lechuga silvestre, en particular de una planta de la especie *Lactuca virosa*.

Así, en un aspecto, se describe en el presente documento una planta de *Lactuca sativa* que comprende un fragmento de introgresión de una planta de lechuga silvestre en el cromosoma 6 y/o en el cromosoma 7, donde dicho fragmento de introgresión en el cromosoma 6 comprende un Locus de Rasgo Cuantitativo (QTL) denominado QTL6.1 y en el que dicho fragmento de introgresión en el cromosoma 7 comprende un locus de rasgo cuantitativo denominado QTL7.1 y/o QTL7.2, y en el que dicho fragmento de introgresión en el cromosoma 6 y/o 7 confiere resistencia contra *Nasonovia ribisnigri* biotipo 1 (Nr: 1). Cada uno de los fragmentos de introgresión puede estar en forma homocigota o heterocigota. En un aspecto descrito en el presente documento, el o los fragmentos de introgresión están en forma homocigota. En un aspecto descrito en el presente documento, cuando la planta comprende más de un fragmento de introgresión, es decir, dos o tres fragmentos, éstos se originan en la misma accesión de lechuga silvestre. En un aspecto divulgado en el presente documento, esta accesión de lechuga silvestre es una accesión de *L. virosa* (como NCIMB 42086 o su progenie). En un aspecto descrito en el presente documento, la accesión silvestre es una accesión de *L. virosa* seleccionada entre una accesión que comprende los marcadores específicos de la accesión de *L. virosa* VSP1 y VSP2; o una accesión que comprende los marcadores específicos de la accesión de *L. virosa* VSP3 y VSP4.

Cuando se hace referencia en el presente documento a un fragmento de introgresión en el cromosoma 6 y/o 7 que tiene el QTL que confiere resistencia a Nr: 1, esto abarca varios tamaños de fragmentos de introgresión, por ejemplo, el fragmento que comprende todos los marcadores SNP (SNP\_01 a SNP\_07, o en la alternativa SNP1.23, SNP\_02, SNP2.24 y SNP\_03, o cualquier marcador entre estos, para el fragmento del cromosoma 6 (que comprende el QTL6.1); SNP\_08 a SNP\_14, o cualquier marcador entre estos, para el fragmento del cromosoma 7 (que comprende el QTL7.2); SNP\_15 a SNP\_22, o en su defecto SNP\_17, SNP17.25, SNP\_18 y SNP\_19, o cualquier marcador entre ellos, para el fragmento del cromosoma 7, que comprende el QTL7.1), pero también fragmentos de introgresión más pequeños (que comprenden, por ejemplo, 1, 2, 3 o 4 de los marcadores SNP), cuando, no obstante, el fragmento sigue siendo lo suficientemente grande como para conferir resistencia a Nr: 1 cuando el fragmento o fragmentos de introgresión están en forma heterocigota u homocigota en el genoma de la lechuga cultivada.

Al referirse a los marcadores SNP del presente documento, que son indicativos de la presencia del fragmento de introgresión (y el QTL de Nr: 1 presente en el fragmento de introgresión), se entiende que se hace referencia al genotipo SNP indicativo del fragmento de introgresión, es decir, al genotipo SNP tal y como se proporciona en las Tablas 1, 2 y 3, o en las Tablas 4, 5, 6 y 7, y en el presente documento. Se observa que el genotipo del marcador SNP puede distinguir si el fragmento de introgresión está en forma homocigota o heterocigota, como se muestra en estas tablas. En la forma homocigótica el nucleótido es idéntico, mientras que en la forma heterocigótica el nucleótido no es idéntico. El genotipo SNP del cromosoma "tipo silvestre" que carece del fragmento de introgresión es el otro genotipo, que también figura en las Tablas 1-3 y en las Tablas 4-7 (bajo el genotipo del parente *L. sativa*). Así, por ejemplo, el genotipo del SNP\_01 indicativo del fragmento de introgresión que comprende el QTL6.1 es "AT"(QTL6.1/wt, es decir, heterocigoto para el QTL que confiere resistencia) o "AA"(QTL6.1/QTL6.1, es decir, homocigoto para el QTL que confiere la resistencia), mientras que el genotipo SNP indicativo del tipo silvestre / control genético (que carece del fragmento de introgresión) es "TT" (wt/wt). Por lo tanto, al referirse a una planta o parte de la planta (por ejemplo, una célula) que comprende el fragmento de introgresión en forma homocigótica o heterocigótica, se entiende que los marcadores SNP vinculados al fragmento de introgresión tienen el genotipo SNP

correspondiente. Por ejemplo, una planta divulgada en el presente documento que es homocigota para el fragmento de introgresión que comprende el QTL6.1 comprende los marcadores SNP en forma homocigota.

Así, en un aspecto, se describe una planta cultivada de *L. sativa* que comprende un fragmento de introgresión en el cromosoma 6 y/o en el cromosoma 7 en forma homocigota o heterocigota, en la que dicho fragmento de introgresión confiere resistencia contra el biotipo Nr:1. En un aspecto preferido, uno, dos o los tres fragmentos de introgresión están en forma homocigótica (y el marcador o marcadores SNP indicativos del QTL son homocigóticos para el mencionado nucleótido).

La resistencia contra Nr: 1 se expresa fenotípicamente como un número medio (estadísticamente) inferior de pulgones del biotipo Nr: 1 en las plantas de la línea o variedad de lechuga cultivada que comprende el fragmento o fragmentos de introgresión en el cromosoma 6 (que comprende el QTL6.1) y/o 7 (que comprende el QTL7.1 y/o 7.2) en forma homocigota o heterocigota en comparación con la línea o variedad de control que carece del fragmento de introgresión en el cromosoma 6 y 7 cuando se cultiva en el mismo entorno. La línea o variedad de control es una línea o variedad de lechuga cultivada que es susceptible contra Nr:1. En un aspecto se selecciona de una variedad que es susceptible contra Nr:0 y Nr:1 (es decir, que carece de resistencia a *N. ribisnigri*). En otro aspecto preferido descrito en el presente documento, se trata de una línea o variedad que comprende la resistencia a Nr:0 conferida por el gen dominante *Nr*, como la variedad Mafalda (u otras, como Susana, Sylvestra, Veronique, y muchas otras, véase la web mundial en nunhems.nl, donde las variedades con resistencia a Nr:0 se indican como "HR"). En otro aspecto descrito en el presente documento es la línea o variedad de control genético.

Así pues, en el presente documento se dan a conocer diferentes plantas de lechuga cultivadas que comprenden un fragmento de introgresión en el cromosoma 6 (que comprende el QTL6.1 o una variante del mismo) en forma homocigótica o heterocigótica; o que comprenden un fragmento de introgresión en el cromosoma 7 (que comprende el QTL7.1 o una variante del mismo) en forma homocigótica o heterocigótica; o que comprenden un fragmento de introgresión en el cromosoma 7 (que comprende el QTL7.2 o una variante del mismo) en forma homocigota o heterocigota; o que comprenden dos fragmentos de introgresión (QTL6.1 y QTL7.1 o variantes de cualquiera de ellos; o QTL6.1 y QTL7.2 o variantes de cualquiera de ellos; o QTL7.1 y QTL7.2 o variantes de cualquiera de ellos; en los que los dos QTL pueden estar independientemente el uno del otro en forma homocigota o heterocigota) o los tres fragmentos de introgresión (QTL6.1, QTL7.1 y QTL7.2 o variantes de cualquiera de ellos), estando cualquiera de estos tres QTL independientemente en forma homocigota o heterocigota.

Las plantas divulgadas en el presente documento comprenden por tanto un genoma de lechuga cultivada, con uno o dos cromosomas recombinantes 6 y/o con uno o dos cromosomas recombinantes 7. Los cromosomas recombinantes comprenden un fragmento de una lechuga silvestre (especialmente de *L. virosa*; en un aspecto de *L. virosa* accesión NCIMB42086 o progenie de la misma, o de otra *L. virosa*, como una accesión que comprenda VSP1 y VSP2 o que comprenda VSP3 y VSP4), que es fácilmente distinguible del genoma de la lechuga cultivada mediante el análisis de marcadores moleculares (utilizando, por ejemplo, los marcadores proporcionados en el presente documento), la secuenciación del genoma completo, el pintado del cromosoma y técnicas similares.

En un aspecto, la presencia del (de los) fragmento(s) de introgresión en los cromosomas 6 y/o 7 en el genoma de la planta o célula vegetal o tejido vegetal (o en el ADN extraído del mismo) es detectable mediante un ensayo de marcadores moleculares que detecta uno o más marcadores moleculares del (de los) fragmento(s) de introgresión. Sin embargo, como se ha mencionado, pueden utilizarse otras técnicas, por ejemplo, el genotipo SNP de los marcadores también puede determinarse mediante secuenciación o utilizando marcadores alternativos situados entre los marcadores SNP proporcionados en el presente documento o dentro de 7cM, o dentro de 5cM, de un marcador proporcionado en el presente documento; o dentro de 10Mb, 5 Mb, 3 Mb, 2.5 Mb, 2 Mb, 1 Mb, 0,5 Mb, 0,4Mb, 0,3Mb, 0,2Mb, 0,1 Mb, 50kb, 20kb, 10kb, 5kb o menos de un marcador proporcionado en el presente documento.

45 Plantas de lechuga que comprenden un fragmento de introgresión en el cromosoma 6 (que comprende el QTL 6.1 o una variante del mismo)

Sobre la base de los primeros resultados del mapeo de QTL, se describen en el presente documento las siguientes plantas de lechuga cultivadas.

En un aspecto descrito en el presente documento, el fragmento de introgresión en el cromosoma 6 es detectable mediante un ensayo de marcadores moleculares que detecta al menos 1, preferiblemente al menos 2 o 3, o al menos 4, 5, 6 o 7 de los marcadores seleccionados del grupo que consiste en:

- 50 a) el genotipo AA o AT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_01 en SEQ ID NO: 1 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 1);
- 55 b) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_02 en SEQ ID NO: 2 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:2);
- c) el genotipo AA o AC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_03 en SEQ ID NO: 3 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:3);

- d) el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_04 en SEQ ID NO: 4 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:4);
- e) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_05 en SEQ ID NO: 5 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:5);
- 5 f) el genotipo CC o CA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_06 en SEQ ID NO: 6 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:6);
- g) el genotipo GG o GT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_07 en SEQ ID NO: 7 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:7);
- 10 h) cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre, especialmente del *genoma de L. virosa*, situado físicamente entre el SNP\_01 y el SNP\_07 (por ejemplo, entre el SNP\_01 y el SNP\_06, el SNP\_01 y el SNP\_05, el SNP\_01 y el SNP\_04, el SNP\_01 y el SNP\_03, el SNP\_01 y el SNP\_02); o entre el SNP\_02 y el SNP\_07 (por ejemplo entre el SNP\_02 y el SNP\_06, el SNP\_02 y el SNP\_05, el SNP\_02 y el SNP\_04, el SNP\_02 y el SNP\_03); o entre el SNP\_03 y el SNP\_07 (por ejemplo, entre el SNP\_03 y el SNP\_06, el SNP\_03 y el SNP\_05, el SNP\_03 y el SNP\_04); o entre el SNP\_04 y el SNP\_7 (por ejemplo, entre el SNP\_01 y el SNP\_03).p. ej. entre SNP\_04 y SNP\_06, SNP\_04 y SNP\_05); o entre SNP\_05 y SNP\_07 (p. ej. entre SNP\_05 y SNP\_06); o entre SNP\_06 y SNP\_07.
- 15

Como se ha mencionado, el experto también puede desarrollar otros marcadores moleculares, por ejemplo, un marcador específico del genoma de *L. virosa* silvestre entre el marcador SNP\_01 y SNP\_07 y/o dentro de 7 cM o dentro de 5 cM de cualquiera de SNP\_01 a SNP\_07, y/o dentro de 5 Mb, 3 Mb, 2.5 Mb, 2 Mb, 1 Mb, 0.5 Mb, 0.4Mb, 0,3Mb, 0,2Mb, 0,1 Mb, 50kb, 20kb, 10kb, 5kb o menos de cualquiera de los SNP\_01 a SNP\_07. Dichos marcadores también pueden ser un tramo de nucleótidos, marcadores CAPS, INDEL, etc. El experto puede, por ejemplo, secuenciar el fragmento de introgresión o la región QTL y utilizar la información de la secuencia para desarrollar nuevos marcadores y ensayos de marcadores.

En otro aspecto descrito en el presente documento, el fragmento de introgresión en el cromosoma 6 (que comprende el QTL6.1 o una variante) es detectable mediante un ensayo de marcadores moleculares que detecta al menos 1, preferiblemente al menos 2 o 3, o al menos 4, 5, 6, o los 7 marcadores seleccionados del grupo que consiste en:

- a) el genotipo AA o AT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_01 en SEQ ID NO: 1 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 1);
- 25 b) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_02 en SEQ ID NO: 2 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:2);
- c) el genotipo AA o AC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_03 en SEQ ID NO: 3 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:3);
- 30 d) el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_04 en SEQ ID NO: 4 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:4);
- e) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_05 en SEQ ID NO: 5 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:5);
- 35 f) el genotipo CC o CA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_06 en SEQ ID NO: 6 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:6);
- g) el genotipo GG o GT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_07 en SEQ ID NO: 7 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:7).

En otro aspecto descrito en el presente documento, se proporciona una planta cultivada de *L. sativa* que comprende un fragmento de introgresión en el cromosoma 6 en forma homocigota o heterocigota, en el que dicho fragmento de introgresión confiere resistencia a Nr:1 y en el que dicho fragmento de introgresión es detectable mediante un ensayo de marcadores moleculares que detecta al menos 2, 3 o 4 (o al menos 5, 6 o los 7) marcadores consecutivos seleccionados del grupo que consiste en:

- a) el genotipo AA o AT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_01 en SEQ ID NO: 1 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 1);
- 50 b) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_02 en SEQ ID NO: 2 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:2);
- c) el genotipo AA o AC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_03 en SEQ ID NO: 3 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:3);

- d) el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_04 en SEQ ID NO: 4 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:4);
- e) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_05 en SEQ ID NO: 5 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:5);
- 5 f) el genotipo CC o CA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_06 en SEQ ID NO: 6 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:6);
- g) el genotipo GG o GT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_07 en SEQ ID NO: 7 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:7).

10 Los marcadores SNP SNP\_01 a SNP\_07 están situados en el orden dado en el fragmento de introgresión. Los marcadores consecutivos se refieren a marcadores en el mismo orden consecutivo, por lo que, por ejemplo, dos marcadores consecutivos pueden ser SNP\_01 y SNP\_02; SNP\_02 y SNP\_03; SNP\_03 y SNP\_04, etc. y tres marcadores consecutivos pueden ser SNP\_01 y SNP\_02 y SNP\_03; SNP\_02 y SNP\_03 y SNP\_04; etc.

15 El fragmento puede, por tanto, ser más pequeño y carecer de 1, 2, 3, 4, 5 o incluso 6 de los marcadores, pero aún así puede conferir resistencia a Nr: 1 en la planta de lechuga cultivada, es decir, todavía puede comprender el alelo Nr: 1. Dichos fragmentos de introgresión más pequeños se divulan en el presente documento.

20 Las plantas que tienen fragmentos de introgresión más pequeños pueden generarse, por ejemplo, comenzando con una planta que comprende un fragmento de introgresión grande y cruzando dicha planta con otra planta de lechuga cultivada y autofecundando la progenie de dicho cruce para generar una población de plantas que puede contener recombinantes que tienen un fragmento de introgresión más pequeño en el cromosoma 6. Los ensayos de marcadores pueden utilizarse para determinar el tamaño del fragmento de introgresión más pequeño. Pueden faltar uno o más de los marcadores SNP\_01 a SNP\_07 (es decir, la planta puede comprender sólo 1, 2, 3, 4, 5, 6 de los marcadores SNP). El fenotipo de resistencia a Nr: 1 de las plantas que comprenden dicho fragmento de introgresión más pequeño puede entonces determinarse como se describe en el presente documento, es decir, cultivando una pluralidad de plantas que comprenden el fragmento de introgresión más pequeño en un entorno controlado o en experimentos de campo junto con plantas de control adecuadas, que carecen del fragmento de introgresión. El ensayo puede ser de libre elección o de no elección, ya que la resistencia identificada aquí confiere ambos tipos de resistencia. Las plantas de control son preferentemente un control genético o una variedad susceptible, como Mafalda. Si la resistencia a Nr: 1 sigue siendo significativamente mayor que en el control, entonces el fragmento de introgresión más pequeño ha conservado el QTL6.1 (o una variante del mismo).

25 30 Alternativamente, el mismo QTL o la variante del mismo (QTL6.1 o la variante del QTL6.1) puede ser introgresado desde una fuente silvestre diferente, por lo que opcionalmente no todos los marcadores SNP divulgados en el presente documento pueden estar presentes. Estas fuentes silvestres alternativas son preferentemente accesiones de *L. virosa*. Pueden identificarse utilizando los marcadores SNP proporcionados en el presente documento, mediante el cribado de germoplasma silvestre (por ejemplo, accesiones de *L. virosa*) utilizando un ensayo de marcadores para detectar el genotipo de los marcadores SNP\_01 a SNP\_07 o cualquier marcador intermedio entre SNP\_01 y SNP\_07. Alternativamente, dichas fuentes silvestres pueden ser identificadas fenotípicamente y opcionalmente examinadas en una etapa posterior para detectar la presencia de uno o más de los marcadores descritos, u opcionalmente la progenie de los cruces con dichas accesiones puede ser examinada para detectar los marcadores. También se describen en el presente documento las plantas que comprenden el mismo QTL6.1 o una variante del mismo, procedentes de otras fuentes. Siempre que al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6 o más de los SNP, preferiblemente al menos 2, 3, 4, 5, 6 o más marcadores SNP consecutivos de SNP\_01 a SNP\_07 tengan también el genotipo SNP indicativo del QTL, la planta comprende el QTL6.1 (o una variante del mismo). El experto puede introgresar el QTL6.1 (o una variante del mismo) en la lechuga cultivada para conferir resistencia a Nr:1 como se describe en el presente documento.

40 45 Se divulga en el presente documento que la planta descrita en el presente documento comprende un fragmento de introgresión que comprende al menos un subconjunto de marcadores SNP, es decir, al menos 1, 2, 3, 4, o los 5 marcadores siguientes seleccionados del grupo que consiste en:

- a) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_02 en SEQ ID NO: 2 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:2);
- 50 b) el genotipo AA o AC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_03 en SEQ ID NO: 3 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:3);
- c) el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_04 en SEQ ID NO: 4 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:4);
- d) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_05 en SEQ ID NO: 5 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:5);

e) el genotipo CC o CA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_06 en SEQ ID NO: 6 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:6); y opcionalmente

f) cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre, especialmente *L. virosa*, entre el SNP\_02 y el SNP\_06.

5 Preferentemente, la planta divulgada comprende un fragmento de introgresión que comprende al menos los marcadores SNP\_03, SNP\_04, SNP\_05 y/o SNP\_06 (o cualquier marcador entre cualquiera de ellos), especialmente al menos SNP\_04, SNP\_05 y/o SNP\_06 (o cualquier marcador entre cualquiera de ellos).

Así, el fragmento de introgresión (y una planta de lechuga cultivada o una parte de la planta, por ejemplo, una célula, que comprende el fragmento de introgresión) puede detectarse en un ensayo de marcadores mediante la detección del genotipo SNP del fragmento de introgresión (es decir, del germoplasma de lechuga silvestre, por ejemplo, *L. virosa* ) de uno o más o de todos los marcadores anteriores.

10 15 En otro aspecto, la planta descrita comprende un fragmento de introgresión que comprende al menos el SNP\_04, es decir, el fragmento de introgresión se detecta en un ensayo de marcadores que detecta el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_04 en SEQ ID NO: 4. Opcionalmente también se detectan los marcadores de flanqueo, SNP\_03 y/o SNP\_05, es decir, el fragmento de introgresión se detecta en un ensayo de marcadores que detecta al menos SNP\_04 y opcionalmente también al menos uno de los siguientes marcadores:

- el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_05 en SEQ ID NO: 5 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:5); y/o
- el genotipo AA o AC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_03 en SEQ ID NO: 3 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:3); y opcionalmente
- cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre, especialmente *L. virosa*, entre SNP\_03 y SNP\_05.

Plantas de lechuga que comprenden un fragmento de introgresión en el cromosoma 6 (que comprende el QTL 6.1 o una variante del mismo)

25 Sobre la base de los datos de mapeo de QTL posteriores, la región de QTL podría especificarse y las plantas de lechuga cultivadas que comprenden un fragmento de introgresión de *Lactuca virosa*, en el que el fragmento de introgresión comprende QTL6.1 (o una variante del mismo) se divulan en el presente documento, en el que el fragmento de introgresión comprende la totalidad o parte de la región que comienza en 77 Mb en el cromosoma 6 y termina en 161 Mb en el cromosoma 6.

30 Así, en un aspecto, se describe en el presente documento una planta de *Lactuca sativa* que comprende un fragmento de introgresión de *Lactuca virosa* en el cromosoma 6 que comprende un Locus de Rasgo Cuantitativo que confiere resistencia contra *Nasonovia ribisnigri* biotipo 1 (Nr:1), y en el que el fragmento de introgresión en el cromosoma 6 comprende toda o parte de la región que comienza en 77 Mb y termina en 161 Mb del cromosoma 6.

35 40 Se entiende que un fragmento de introgresión más pequeño (es decir, que comprende una parte que confiere resistencia de la región antes mencionada que abarca de 77 Mb a 161 Mb del cromosoma 6) que conserva el QTL6.1 (o variante) puede ser un fragmento que tenga un tamaño de 80Mb, 70Mb, 60Mb, 50Mb, 40Mb, 30Mb, 20Mb, 10Mb, 5Mb, 2.5Mb, 2Mb, 1Mb, 0.5Mb, 100kb, 50kb o menos y comprenda el QTL6.1 o una variante del mismo. En un aspecto, la parte tiene un tamaño de al menos 5kb, 10kb, 20kb o más.

45 50 En un aspecto, el fragmento de introgresión en el cromosoma 6 se detecta mediante un ensayo de marcadores moleculares que detecta al menos uno, preferiblemente al menos 2 o 3 o 4 o 5 (o más) de los marcadores seleccionados del grupo que consiste en:

a) El genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP1.23 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 23;

b) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_02 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 2;

c) el genotipo TT o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP2.24 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 24;

d) el genotipo AA o AC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_03 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 3.

50 Opcionalmente, en un aspecto, el fragmento de introgresión se detecta mediante un marcador específico de la accesión de *L. virosa* seleccionado del genotipo GG o GT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido VSP1 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 26 y el genotipo AA o AC para el marcador de polimorfismo de un solo

nucleótido VSP3 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 27. Utilizando los marcadores SNP VSP1 y VSP3 se pueden distinguir los fragmentos de introgresión que comprenden el QTL6.1 de dos accesiones diferentes del tipo *L. virosa*.

El fragmento de introgresión puede estar en forma heterocigota u homocigota, como indica el genotipo del SNP. Así, en un aspecto, el fragmento de introgresión está en forma homocigota y el genotipo del marcador SNP es el genotipo homocigota.

Como se ha mencionado, las variantes del QTL6.1 pueden ser identificadas e introgresadas de varias accesiones de *Lactuca virosa* resistentes a Nr:1. Dichas variantes pueden comprender una secuencia genómica que no es 100% idéntica a las secuencias proporcionadas en el presente documento, pero que todavía puede tener una identidad de secuencia sustancial (como al menos el 85%, 90% o más) cuando se alinean las secuencias genómicas de las mismas longitudes. La existencia de variación en la región del QTL donde se localiza el QTL6.1 puede verse debido a que los marcadores SNP específicos de la accesión pudieron ser identificados en introgresiones del QTL6.1 de dos accesiones diferentes de *L. virosa*, cuyas introgresiones, sin embargo, comprenden ambas el QTL6.1 que confiere resistencia. Así, el fragmento de introgresión que comprende VSP1 es un fragmento de introgresión diferente al que comprende VSP3, pero ambos comprenden el QTL6.1. Dentro de las accesiones silvestres de *L. virosa*, que comprenden el QTL6.1, puede haber, por tanto, variación genómica en la región que abarca de 77 Mb a 161 Mb en el cromosoma 6. Sin embargo, estas accesiones pueden utilizarse igualmente para introgresar en Nr toda o parte de la región que comienza en 77Mb y termina en 161 Mb del cromosoma 6: 1 lechuga cultivada susceptible, con el fin de generar las plantas divulgadas en el presente documento. Con el conocimiento de la presente invención, de que la región comprende un QTL, el experto puede introgresar la misma región o una parte más pequeña que confiera resistencia en la lechuga cultivada.

En un aspecto, el fragmento de introgresión en el cromosoma 6 se detecta mediante un ensayo de marcadores moleculares que detecta, al menos uno, preferiblemente al menos 2 o 3 o 4 de los marcadores seleccionados del grupo que consiste en:

- a) El genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP1.23 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 23;
- b) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_02 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 2;
- c) el genotipo TT o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP2.24 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 24;
- d) el genotipo AA o AC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_03 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 3.

En un aspecto descrito en el presente documento, el fragmento de introgresión es derivable de semillas depositadas bajo NCIMB42086 o su progenie.

En un aspecto descrito en el presente documento, el fragmento de introgresión es de otra accesión de *L. virosa* resistente a Nr: 1, como una accesión que comprende el genotipo AA o AC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido VSP3 en SEQ ID NO: 27 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 27).

En otro aspecto descrito en el presente documento, el fragmento de introgresión es de otra accesión de *L. virosa* resistente a Nr: 1, como una accesión que comprende el genotipo GG o GT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido VSP1 en SEQ ID NO: 26 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 26).

*Plantas de lechuga con un fragmento de introgresión en el cromosoma 7 (QTL 7.1y/o QTL7.2 o variantes de los mismos)*

Sobre la base de los resultados del primer mapeo de QTL, se describen en el presente documento las siguientes plantas de lechuga cultivadas.

En un aspecto descrito en el presente documento, el fragmento de introgresión que comprende el QTL 7.2 o una variante del mismo (y la planta de lechuga cultivada o la parte de la planta que comprende el fragmento de introgresión) en el cromosoma 7 es detectable mediante un ensayo de marcadores moleculares que detecta al menos 1, preferiblemente al menos 2 o 3, o al menos 4, 5, 6 o 7 de los marcadores seleccionados del grupo que consiste en:

- a) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_08 en SEQ ID NO: 8 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:8);

- b) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_09 en SEQ ID NO: 9 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:9);
- c) el genotipo AA o AG para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_10 en SEQ ID NO: 10 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 10);
- 5 d) el genotipo CC o CA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_11 en SEQ ID NO: 11 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 11);
- e) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_12 en SEQ ID NO: 12 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 12);
- 10 f) el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_13 en SEQ ID NO: 13 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 13);
- g) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_14 en SEQ ID NO: 14 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 14);
- 15 h) cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre, especialmente del *genoma de L. virosa*, situado físicamente entre el SNP\_08 y el SNP\_14 (por ejemplo, entre el SNP\_08 y el SNP\_13, el SNP\_08 y el SNP\_12, el SNP\_08 y el SNP\_11, el SNP\_08 y el SNP\_10, el SNP\_08 y el SNP\_09); o entre el SNP\_09 y el SNP\_14 (por ejemplo entre el SNP\_09 y el SNP\_13, el SNP\_09 y el SNP\_12, el SNP\_09 y el SNP\_11, el SNP\_09 y el SNP\_10); o entre el SNP\_10 y el SNP\_14 (por ejemplo, entre el SNP\_10 y el SNP\_13, el SNP\_10 y el SNP\_12, el SNP\_10 y el SNP\_11); o entre el SNP\_11 y el SNP\_14 (por ejemplo, entre el SNP\_11 y el SNP\_14).p. ej. entre SNP\_11 y SNP\_13, SNP\_11 y SNP\_12); o entre SNP\_12 y SNP\_14 (p. ej. entre SNP\_12 y SNP\_13); o entre SNP\_13 y SNP\_14.
- 20

Como se ha mencionado, el experto también puede desarrollar otros marcadores moleculares, por ejemplo, un marcador específico del genoma de la lechuga silvestre, por ejemplo, *L. virosa* entre el marcador SNP\_08 y SNP\_14 y/o dentro de 7 cM o dentro de 5 cM de cualquiera de SNP\_08 a SNP\_14, y/o dentro de 5 Mb, 3 Mb, 2.5 Mb, 2 Mb, 1 Mb, 0.5 Mb, 0.4Mb, 0.3Mb, 0.2Mb, 0.1 Mb, 50kb, 20kb, 10kb, 5kb o menos de cualquiera de SNP\_08 a SNP\_14.

25 Estos marcadores también pueden ser un tramo de nucleótidos, marcadores CAPS, INDELs, etc.

En otro aspecto descrito en el presente documento, el fragmento de introgresión en el cromosoma 7 (que comprende el QTL 7.2 o una variante) es detectable mediante un ensayo de marcadores moleculares que detecta al menos 1, preferiblemente al menos 2 o 3, o al menos 4, 5, 6, o los 7 marcadores seleccionados del grupo que consiste en:

- 30 a) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_08 en SEQ ID NO: 8 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:8);
- b) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_09 en SEQ ID NO: 9 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:9);
- 35 c) el genotipo AA o AG para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_10 en SEQ ID NO: 10 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 10);
- d) el genotipo CC o CA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_11 en SEQ ID NO: 11 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 11);
- e) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_12 en SEQ ID NO: 12 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 12);
- 40 f) el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_13 en SEQ ID NO: 13 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 13);
- g) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_14 en SEQ ID NO: 14 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 14).

45 En otro aspecto, se describe una planta de lechuga cultivada que comprende un fragmento de introgresión en el cromosoma 7 en forma homocigota o heterocigota, donde dicho fragmento de introgresión comprende el QTL7.2 que confiere resistencia a Nr:1 y en el que dicho fragmento de introgresión es detectable mediante un ensayo de marcadores moleculares que detecta al menos 2, 3 o 4 (o al menos 5, 6, 7) marcadores consecutivos seleccionados del grupo que consiste en:

- 50 a) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_08 en SEQ ID NO: 8 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:8);

- b) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_09 en SEQ ID NO: 9 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:9);
- c) el genotipo AA o AG para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_10 en SEQ ID NO: 10 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:10);
- 5 d) el genotipo CC o CA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_11 en SEQ ID NO: 11 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 11);
- e) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_12 en SEQ ID NO: 12 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 12);
- 10 f) el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_13 en SEQ ID NO: 13 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 13);
- g) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_14 en SEQ ID NO: 14 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 14).

Los marcadores SNP SNP\_08 a SNP\_14 están situados en el orden dado en el fragmento de introgresión. Los marcadores consecutivos se refieren a marcadores en el mismo orden consecutivo, por lo que, por ejemplo, dos marcadores consecutivos pueden ser SNP\_08 y SNP\_09; SNP\_09 y SNP\_10; SNP\_10 y SNP\_11, etc. y tres marcadores consecutivos pueden ser SNP\_08 y SNP\_09 y SNP\_10; SNP\_09 y SNP\_10 y SNP\_11; etc.

El fragmento puede, por lo tanto, ser más pequeño y carecer de 1, 2, 3, 4, 5, 6 de los marcadores, pero aún puede conferir resistencia a Nr: 1 en la planta de lechuga cultivada, es decir, todavía puede comprender el alelo Nr: 1. Dichos fragmentos de introgresión más pequeños también se divultan en el presente documento. Las plantas que tienen fragmentos de introgresión más pequeños pueden generarse, por ejemplo, comenzando con una planta que comprende un fragmento de introgresión grande y cruzando dicha planta con otra planta de lechuga cultivada y autofecundando la progenie de dicho cruce para generar una población de plantas que puede contener recombinantes que tienen un fragmento de introgresión más pequeño en el cromosoma 7. Los ensayos de marcadores pueden utilizarse para determinar el tamaño del fragmento de introgresión más pequeño. Pueden faltar uno o más de los marcadores SNP\_08 a SNP\_14 (es decir, la planta puede comprender sólo 1, 2, 3, 4, 5 o 6 de los marcadores SNP). La resistencia a Nr: 1 de las plantas que comprenden ese fragmento de introgresión más pequeño puede compararse en ensayos de Nr: 1 como se describe en el presente documento, es decir, cultivando una pluralidad de plantas que comprenden el fragmento de introgresión más pequeño en experimentos de campo junto con plantas de control adecuadas, que carecen del fragmento de introgresión. Las plantas de control son preferentemente un control genético o un control susceptible como Mafalda. Si la resistencia a Nr: 1 sigue siendo significativamente mayor que en el control, entonces el fragmento de introgresión más pequeño ha conservado el QTL7.2 (o variante).

Alternativamente, el mismo QTL o la variante (QTL7.2 o la variante QTL7.2) puede ser introgresado de una fuente silvestre diferente, como diferentes accesiones de *L. virosa*, por lo que opcionalmente no todos los marcadores SNP divulgados en el presente documento pueden estar presentes. Dichas fuentes silvestres alternativas pueden identificarse utilizando los marcadores SNP proporcionados en el presente documento, mediante el cribado de germoplasma silvestre, por ejemplo, de accesiones de *L. virosa* utilizando un ensayo de marcadores para detectar el genotipo de los marcadores SNP\_08 a SNP\_14, o un marcador intermedio. Alternativamente, dichas fuentes silvestres pueden ser identificadas fenotípicamente y opcionalmente examinadas en una etapa posterior para detectar la presencia de uno o más de los marcadores descritos, u opcionalmente la progenie de los cruces con dichas accesiones puede ser examinada para detectar los marcadores. También se dan a conocer plantas que comprenden el QTL7.2 o la variante del QTL7.2 de otras fuentes. Siempre que al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, o 7 o más de los SNP, preferiblemente al menos 2, 3, 4, 5, 6, o 7 marcadores SNP consecutivos de SNP\_08 a SNP\_14 tengan también genotipo SNP indicativo del QTL, la planta comprende el QTL7.2 (o una variante del mismo). El experto puede introgresar el QTL7.2 (o una variante del mismo) en la lechuga cultivada para generar resistencia a Nr:1 como se describe en este documento.

En un aspecto específico, la planta descrita en el presente documento comprende un fragmento de introgresión que comprende al menos un subconjunto de marcadores SNP, es decir, al menos 1, 2, 3, 4 o los 5 marcadores siguientes seleccionados del grupo que consiste en:

- 50 a) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_08 en SEQ ID NO: 8 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:8);
- b) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_09 en SEQ ID NO: 9 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:9);
- c) el genotipo AA o AG para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_10 en SEQ ID NO: 10 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 10);

d) el genotipo CC o CA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_11 en SEQ ID NO: 11 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 11);

5 e) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_12 en SEQ ID NO: 12 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:12); y opcionalmente

f) cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre, como un marcador específico del genoma de *L. virosa* , entre el marcador SNP\_08 y el SNP\_12.

Especialmente, en un aspecto descrito en el presente documento, la planta de lechuga cultivada comprende al menos 1, 2 o 3 marcadores seleccionados del grupo que consiste en:

10 a) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_09 en SEQ ID NO: 9 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:9);

b) el genotipo AA o AG para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_10 en SEQ ID NO: 10 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 10);

15 c) el genotipo CC o CA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_11 en SEQ ID NO: 11 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 11); y opcionalmente

d) cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre, como un marcador específico del genoma de *L. virosa* , entre el marcador SNP\_09 y el SNP\_11.

Así, el fragmento de introgresión (y una planta de lechuga cultivada o una parte de la planta, por ejemplo, una célula, que comprende el fragmento de introgresión) puede detectarse en un ensayo de marcadores mediante la detección del genotipo SNP del fragmento de introgresión (es decir, del germoplasma de lechuga silvestre) de uno o más o de todos los marcadores anteriores.

En un aspecto descrito en el presente documento, el fragmento de introgresión que comprende el QTL 7.1 (y la planta de lechuga cultivada o la parte de la planta que comprende el fragmento de introgresión) en el cromosoma 7 es detectable mediante un ensayo de marcadores moleculares que detecta al menos 1, preferiblemente al menos 2 o 3, o al menos 4, 5, 6, 7 u 8 de los marcadores seleccionados del grupo que consiste en:

25 a) el genotipo TT o TA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_15 en SEQ ID NO: 15 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 15);

b) el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_16 en SEQ ID NO: 16 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 16);

30 c) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_17 en SEQ ID NO: 17 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 17);

d) el genotipo GG o GC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_18 en SEQ ID NO: 18 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 18);

35 e) el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_19 en SEQ ID NO: 19 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 19);

f) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_20 en SEQ ID NO: 20 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:20);

g) el genotipo CC o CA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_21 en SEQ ID NO: 21 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:21);

40 h) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_22 en SEQ ID NO: 22 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:22);

i) cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre, especialmente del genoma de *L. virosa* , situado físicamente entre el SNP\_15 y el SNP\_22 (por ejemplo, entre el SNP\_15 y el SNP\_21, el SNP\_15 y el SNP\_20, el SNP\_15 y el SNP\_19, el SNP\_15 y el SNP\_18, el SNP\_15 y el SNP\_17, el SNP\_15 y el SNP\_16); o entre el SNP\_16 y el SNP\_22 (por ejemplo, entre el SNP\_16 y el SNP\_21, el SNP\_16 y el SNP\_20, el SNP\_16 y el SNP\_19, el SNP\_16 y el SNP\_18, el SNP\_16 y el SNP\_17); o entre el SNP\_17 y el SNP\_22 (por ejemplo, entre el SNP\_17 y el SNP\_21, el SNP\_17 y el SNP\_20, el SNP\_17 y el SNP\_19, el SNP\_17 y el SNP\_18); o entre el SNP\_18 y el SNP\_22 (p. ej. entre el SNP\_18 y el SNP\_21, el SNP\_18 y el SNP\_20, el SNP\_18 y el SNP\_19); o entre el SNP\_19 y el SNP\_22 (por ejemplo, entre el SNP\_19 y el SNP\_21, el SNP\_19 y el SNP\_20); o entre el SNP\_20 y el SNP\_22; o entre el SNP\_21 y el SNP\_22.

45 50

Como se ha mencionado, el experto también puede desarrollar otros marcadores moleculares, por ejemplo, un marcador específico del genoma de la lechuga silvestre, por ejemplo, *L. virosa*, entre el marcador SNP\_15 y SNP\_22 y/o dentro de 7 cM o dentro de 5 cM de cualquiera de SNP\_15 a SNP\_22, y/o dentro de 5 Mb, 3 Mb, 2,5 Mb, 2 Mb, 1 Mb, 0,5 Mb, 0,4Mb, 0,3Mb, 0,2Mb, 0,1 Mb, 50kb, 20kb, 10kb, 5kb o menos de cualquiera de SNP\_15 a SNP\_22. Estos marcadores también pueden ser un tramo de nucleótidos, marcadores CAPS, INDELS, etc.

En otro aspecto descrito en el presente documento, el fragmento de introgresión en el cromosoma 7 (que comprende el QTL 7.1 o una variante) es detectable mediante un ensayo de marcadores moleculares que detecta al menos 1, preferiblemente al menos 2 o 3, o al menos 4, 5, 6, 7 o los 8 marcadores seleccionados del grupo que consiste en:

- 10 a) el genotipo TT o TA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_15 en SEQ ID NO: 15 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:15);
- b) el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_16 en SEQ ID NO: 16 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:16);
- 15 c) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_17 en SEQ ID NO: 17 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:17);
- d) el genotipo GG o GC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_18 en SEQ ID NO: 18 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:18);
- e) el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_19 en SEQ ID NO: 19 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:19);
- 20 f) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_20 en SEQ ID NO: 20 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:20);
- g) el genotipo CC o CA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_21 en SEQ ID NO: 21 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:21);
- 25 h) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_22 en SEQ ID NO: 22 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:22).

En otro aspecto, se describe en el presente documento una planta de lechuga cultivada que comprende un fragmento de introgresión en el cromosoma 7 en forma homocigota o heterocigota, en el que dicho fragmento de introgresión comprende el QTL7.1 que confiere resistencia a Nr:1 y en el que dicho fragmento de introgresión es detectable mediante un ensayo de marcadores moleculares que detecta al menos 2, 3 o 4 (o al menos 5, 6, 7, 8) marcadores consecutivos seleccionados del grupo que consiste en:

- 30 a) el genotipo TT o TA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_15 en SEQ ID NO: 15 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:15);
- b) el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_16 en SEQ ID NO: 16 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:16);
- 35 c) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_17 en SEQ ID NO: 17 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:17);
- d) el genotipo GG o GC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_18 en SEQ ID NO: 18 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:18);
- 40 e) el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_19 en SEQ ID NO: 19 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:19);
- f) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_20 en SEQ ID NO: 20 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:20);
- 45 g) el genotipo CC o CA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_21 en SEQ ID NO: 21 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:21);
- h) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_22 en SEQ ID NO: 22 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:22).

Los marcadores SNP SNP\_15 a SNP\_22 están situados en el orden dado en el fragmento de introgresión. Los marcadores consecutivos se refieren a marcadores en el mismo orden consecutivo, por lo que, por ejemplo, dos marcadores consecutivos pueden ser SNP\_12 y SNP\_13; SNP\_13 y SNP\_14; SNP\_14 y SNP\_15, etc. y tres marcadores consecutivos pueden ser SNP\_12 y SNP\_13 y SNP\_14; SNP\_13 y SNP\_14 y SNP\_15; etc.

El fragmento puede, por tanto, ser más pequeño y carecer de 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 de los marcadores, pero aún así puede conferir resistencia a Nr: 1 en la planta de lechuga cultivada, es decir, todavía puede comprender el alelo Nr: 1. Dichos fragmentos de introgresión más pequeños también se divultan en el presente documento. Las plantas que tienen fragmentos de introgresión más pequeños pueden generarse, por ejemplo, comenzando con una planta que comprende un fragmento de introgresión grande y cruzando dicha planta con otra planta de lechuga cultivada y autofecundando la progenie de dicho cruce para generar una población de plantas que puede contener recombinantes que tienen un fragmento de introgresión más pequeño en el cromosoma 7 (que comprende el QTL 7.1 o una variante). Los ensayos de marcadores pueden utilizarse para determinar el tamaño del fragmento de introgresión más pequeño. Pueden faltar uno o más de los marcadores SNP\_15 a SNP\_22 (es decir, la planta puede comprender sólo 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 de los marcadores SNP). La resistencia a Nr: 1 de las plantas que comprenden dicho fragmento de introgresión más pequeño puede entonces compararse en ensayos de Nr:1 como se describe en el presente documento, es decir, cultivando una pluralidad de plantas que comprenden el fragmento de introgresión más pequeño en experimentos de campo junto con plantas de control adecuadas, que carecen del fragmento de introgresión. Las plantas de control son preferentemente un control genético o un control susceptible como Mafalda. Si la resistencia a Nr:1 sigue siendo significativamente mayor que en el control, entonces el fragmento de introgresión más pequeño ha conservado el QTL7.1 (o una variante).

Alternativamente, el mismo QTL o la variante del mismo (QTL7.1 o variante del QTL7.1) puede ser introgresado de una fuente silvestre diferente, tal como diferentes accesiones de *L. virosa*, por lo que opcionalmente no todos los marcadores SNP divulgados en el presente documento pueden estar presentes. Dichas fuentes silvestres alternativas pueden identificarse utilizando los marcadores SNP proporcionados en el presente documento, mediante el cribado de germoplasma silvestre, por ejemplo, accesiones de *L. virosa* utilizando un ensayo de marcadores para detectar el genotipo de los marcadores SNP\_15 a SNP\_22, o un marcador intermedio. Alternativamente, dichas fuentes silvestres pueden ser identificadas fenotípicamente y opcionalmente examinadas en una etapa posterior para detectar la presencia de uno o más de los marcadores descritos, u opcionalmente la progenie de los cruces con dichas accesiones puede ser examinada para detectar los marcadores. También se dan a conocer plantas que comprenden el QTL7.1 o la variante del QTL7.1 de otras fuentes. Siempre que al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 o más de los SNP, preferiblemente al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 marcadores SNP consecutivos de SNP\_15 a SNP\_22 tengan también genotipo SNP indicativo del QTL, la planta comprende el QTL7.1 (o una variante del mismo). El experto puede introgresar el QTL7.1 (o una variante del mismo) en la lechuga cultivada para generar resistencia a Nr:1 como se describe en el presente documento.

En una realización específica, la planta divulgada en el presente documento comprende un fragmento de introgresión que comprende al menos un subconjunto de marcadores SNP, es decir, al menos 1, 2, 3, 4 o los 5 marcadores siguientes seleccionados del grupo que consiste en:

- 35 a) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_17 en SEQ ID NO: 17 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:17);
- 35 b) el genotipo GG o GC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_18 en SEQ ID NO: 18 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:18);
- 35 c) el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_19 en SEQ ID NO: 19 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:19);
- 40 d) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_20 en SEQ ID NO: 20 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:20);
- 40 e) el genotipo CC o CA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_21 en SEQ ID NO: 21 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:21); y opcionalmente
- 45 f) cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre, como un marcador específico del genoma de *L. virosa*, entre el marcador SNP\_19 y el SNP\_21.

Especialmente, en un aspecto la planta de lechuga cultivada divulgada en el presente documento comprende al menos 1, 2 o 3 marcadores seleccionados del grupo que consiste en:

- 50 a) el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_19 en SEQ ID NO: 19 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:19);
- 50 b) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_20 en SEQ ID NO: 20 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:20);
- 50 c) el genotipo CC o CA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_21 en SEQ ID NO: 21 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:21); y opcionalmente

d) cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre, como un marcador específico del genoma de *L. virosa*, entre el marcador SNP\_19 y el SNP\_21.

Así, el fragmento de introgresión (y una planta de lechuga cultivada o una parte de la planta, por ejemplo, una célula, que comprende el fragmento de introgresión) puede detectarse en un ensayo de marcadores mediante la detección del genotipo SNP del fragmento de introgresión (es decir, del germoplasma de lechuga silvestre) de uno o más o de todos los marcadores anteriores.

Plantas de lechuga que comprenden un fragmento de introgresión en el cromosoma 7 (QTL7.1 o una variante del mismo) variante del mismo)

Sobre la base de los datos de mapeo de QTL posteriores, la región QTL7.1 podría especificarse y se divultan plantas de lechuga cultivadas que comprenden un fragmento de introgresión de *Lactuca virosa*, en el que el fragmento de introgresión comprende el QTL7.1 (o una variante del mismo), en el que el fragmento de introgresión comprende toda o parte de la región que comienza en 203 Mb en el cromosoma 7 y termina en 219 Mb en el cromosoma 7.

Así, en un aspecto se divulga en el presente documento una planta de *Lactuca sativa* que comprende un fragmento de introgresión de *Lactuca virosa* en el cromosoma 7 que comprende un Locus de Rasgo Cuantitativo que confiere resistencia contra *Nasonovia ribisnigri* biotipo 1 (Nr:1), y en el que el fragmento de introgresión en el cromosoma 7 comprende toda o parte de la región que comienza en 203 Mb en el cromosoma 7 y termina en 219 Mb del cromosoma 7.

Se entiende que un fragmento de introgresión más pequeño (es decir, que comprende una parte que confiere resistencia de la región mencionada anteriormente que abarca de 203 Mb a 219 Mb del cromosoma 7) que retiene el QTL7.1 (o variante) puede ser un fragmento que tenga un tamaño de 15Mb, 10Mb, 5Mb, 2,5Mb, 2Mb, 1Mb, 0,5Mb, 100kb, 50kb o menos y comprender el QTL7.1 o una variante del mismo. En un aspecto, la parte tiene un tamaño de al menos 5kb, 10kb, 20kb o más.

En un aspecto, el fragmento de introgresión en el cromosoma 7 se detecta mediante un ensayo de marcadores moleculares que detecta al menos uno, preferiblemente al menos 2 o 3 o 4 o 5 (o más) de los marcadores seleccionados del grupo que consiste en:

- a) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_17 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 17;
- b) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP 17.25 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 25;
- c) el genotipo GG o GC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_18 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 18;
- d) el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_19 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 19.

Opcionalmente, en un aspecto, el fragmento de introgresión se detecta mediante un marcador específico de la accesión de *L. virosa* seleccionado del genotipo CC o AC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido VSP2 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 28 y el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido VSP4 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 29. Utilizando los marcadores SNP VSP2 y VSP4 se pueden distinguir los fragmentos de introgresión que comprenden el QTL7.1 de dos tipos diferentes de accesiones de *L. virosa*.

El fragmento de introgresión puede estar en forma heterocigota u homocigota, como indica el genotipo del SNP. Así, en un aspecto, el fragmento de introgresión está en forma homocigota y el genotipo del marcador SNP es el genotipo homocigota.

Como se ha mencionado, las variantes de QTL7.1 pueden ser identificadas e introgresadas de varias accesiones de *Lactuca virosa* resistentes a Nr:1. Dichas variantes pueden comprender una secuencia genómica que no es 100% idéntica a las secuencias proporcionadas en el presente documento, pero que todavía puede tener una identidad de secuencia sustancial (como al menos el 85%, 90% o más) cuando se alinean las secuencias genómicas de las mismas longitudes. El hecho de que exista variación en la región del QTL donde se localiza el QTL7.1 se puede ver debido a que se han podido identificar marcadores SNP específicos de la accesión en introgresiones del QTL7.1 de dos accesiones diferentes de *L. virosa*, cuyas introgresiones, sin embargo, comprenden ambas el QTL7.1 que confiere resistencia. Así, el fragmento de introgresión que comprende VSP2 es un fragmento de introgresión diferente al que comprende VSP4, pero ambos comprenden el QTL7.1. Dentro de las accesiones silvestres de *L. virosa*, que comprenden el QTL7.1, puede haber, por tanto, variación genómica en la región que abarca de 203 Mb a 219 Mb en el cromosoma 7. Sin embargo, estas accesiones pueden utilizarse igualmente para introgresar en Nr toda o parte de la región que comienza en 203Mb y termina en 219 Mb del cromosoma 7: 1

lechuga cultivada susceptible, con el fin de generar las plantas divulgadas en el presente documento. Con el conocimiento de la presente invención, de que la región comprende un QTL, el experto puede introgresar la misma región o una parte más pequeña que confiera resistencia en la lechuga cultivada.

En un aspecto, el fragmento de introgresión en el cromosoma 7 se detecta mediante un ensayo de marcadores

5 moleculares que detecta, al menos uno, preferiblemente al menos 2 o 3 o 4 de los marcadores seleccionados del grupo que consiste en:

- a) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_17 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 17;
- 10 b) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP 17.25 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 25;
- c) el genotipo GG o GC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_18 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 18;
- d) el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_19 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 19.

15 En un aspecto descrito en el presente documento, el fragmento de introgresión es derivable de semillas depositadas bajo NCIMB42086 o su progenie.

En un aspecto descrito en el presente documento, el fragmento de introgresión es de otra accesión de *L. virosa* resistente a Nr: 1, como una accesión que comprende el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido VSP4 en SEQ ID NO: 29 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:29).

20 En otro aspecto descrito en el presente documento, el fragmento de introgresión es de otra accesión de *L. virosa* resistente a Nr: 1, como una accesión que comprende el genotipo CC o CA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido VSP2 en SEQ ID NO: 28 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:28).

25 Así, en un aspecto descrito en el presente documento, se encontró la presencia de tres loci de rasgos cuantitativos (QTL6.1 y/o QTL7.1 y/o QTL7.2) en el cromosoma 6 y 7 de la lechuga silvestre (especialmente *L. virosa*, como la accesión NCIMB42086) que, cuando se transfieren (introgresan) a una variedad de lechuga cultivada o a una línea de mejora por separado o en combinación, y cuando están presentes en forma heterocigótica u homocigótica, confieren resistencia a Nr:1 en la planta de lechuga cultivada. En un aspecto descrito en el presente documento, la planta de lechuga cultivada comprende el o los fragmentos de introgresión en sólo uno de los cromosomas 6 y/o 7, mientras que los cromosomas homólogos 6 y 7 del par pueden ser un cromosoma no recombinante 6 y/o 7 de lechuga cultivada que carece del o los fragmentos de introgresión. En otro aspecto descrito en el presente documento, la planta de lechuga cultivada comprende el o los fragmentos de introgresión en ambos cromosomas 6 y/o 7 del par homólogo (la introgresión está en forma homocigota). Los genotipos de las plantas de lechuga cultivadas pueden ser, por tanto, para las plantas que comprenden un único fragmento de introgresión: QTL6.1/wt, QTL6.1/QTL6.1, QTL7.1/wt, QTL7.1/QTL7.1, QTL7.2/wt, QTL7.2/QTL7.2; para plantas que comprenden dos fragmentos de introgresión, uno en el cromosoma 6 y otro en el cromosoma 7: QTL6.1/wt más QTL7.1/wt, QTL6.1/QTL6.1 más QTL7.1/wt, QTL6.1/QTL6.1 más QTL7.1/QTL7.1, QTL6.1/wtmás QTL7.1/QTL7.1; QTL6.1/wt más QTL7.2/wt, QTL6.1/QTL6.1 más QTL7.2/wt, QTL6.1/QTL6.1 más QTL7.2/QTL7.2, QTL6.1/wt más QTL7.2/QTL7.2; para plantas que comprenden dos fragmentos de introgresión en el cromosoma 7: QTL7.2/wt más QTL7.1/wt, QTL7.2/QTL7.2 más QTL7.1/wt, QTL7.2/QTL7.2 más QTL7.1/QTL7.1, QTL7.2/wt más QTL7.1/QTL7.1. Las plantas que comprenden dos fragmentos de introgresión, uno en el cromosoma 6 y otro en el cromosoma 7, como se ha descrito anteriormente, pueden comprender además el tercer QTL en el cromosoma 7 en forma heterocigota u homocigota.

45 Los fragmentos de introgresión pueden ser de la misma accesión, pero también pueden ser de diferentes accesiones. En un aspecto, los fragmentos de introgresión en el cromosoma 6 son de la misma accesión que los fragmentos de introgresión en el cromosoma 7. Sin embargo, también se pueden combinar fragmentos de introgresión de diferentes accesiones, por ejemplo, los del cromosoma 6 pueden ser de una accesión y los del cromosoma 7 pueden ser de otra. Por ejemplo, los marcadores VSP1 y VSP2 son de una accesión, mientras que los marcadores VSP3 y VSP4 son de una accesión diferente. En un aspecto descrito en el presente documento, el fragmento de introgresión en el cromosoma 6 comprende el marcador VSP1 y el fragmento de introgresión en el cromosoma 7 comprende el marcador VSP2. En otro aspecto descrito en el presente documento, el fragmento de introgresión en el cromosoma 6 comprende el marcador VSP3 y el fragmento de introgresión en el cromosoma 7 comprende el marcador VSP4. Pero el fragmento de introgresión en el cromosoma 6 y 7 también puede ser de diferentes accesiones, por lo que, por ejemplo, el del cromosoma 6 puede comprender VSP1, mientras que el del cromosoma 7 puede comprender VSP4, o el fragmento del cromosoma 6 puede comprender el marcador VSP3 y el del cromosoma 7 el marcador VSP2. Asimismo, una planta homocigota para un fragmento de introgresión, por

ejemplo, que comprenda el QTL6.1, puede contener el mismo fragmento en forma homocigota, pero también puede contener dos fragmentos de introgresión diferentes.

Aunque la presente fuente de los tres QTL es una única fuente silvestre específica, es probable que haya otras 5 accesiones de lechuga silvestre (especialmente accesiones de *L. virosa* ) que comprendan QTL6.1 y/o QTL7. 1 y/o QTL7.2 en el mismo locus/loci en el cromosoma 6 y/o 7. Dichos loci pueden comprender alelos Nr: 1 que tienen secuencias de nucleótidos ligeramente diferentes, es decir, variantes de los alelos (QTL) encontrados aquí. Dichos 10 QTL variantes también pueden ser identificados e introgresados en la lechuga cultivada como se describe en el presente documento, para generar una planta de lechuga cultivada que comprenda un genoma de *L. sativa* cultivada y un cromosoma recombinante 6 y/o 7, donde el cromosoma recombinante 6 y/o 7 comprende un fragmento de 15 introgresión de la especie *Lactuca* silvestre (especialmente *L. virosa*), que confiere resistencia a Nr: 1 en la planta de lechuga cultivada cuando está presente en forma homocigota o heterocigota.

Para identificar dichas plantas silvestres de lechuga que comprenden QTL6.1 y/o QTL7.1 y/o QTL7.2 (o QTL 20 variantes), las accesiones silvestres pueden ser cribadas, por ejemplo, en un ensayo de marcadores o por comparación de secuencias u otros procedimientos, para detectar la presencia de uno o más de los marcadores SNP proporcionados aquí. El putativo Nr: Los QTL (o variantes de QTL) que confieren resistencia pueden entonces 25 introgresarse en la lechuga cultivada, por ejemplo, utilizando opcionalmente MAS (selección asistida por marcadores), es decir, utilizando uno o más (o todos) de los marcadores SNP aquí proporcionados (o marcadores intermedios) para detectar y/o seleccionar las plantas de la progenie (por ejemplo, plantas retrocruzadas) que comprenden un cromosoma recombinante 6 y/o 7. Las plantas seleccionadas, es decir, las plantas de lechuga 30 cultivadas que comprenden un fragmento de introgresión en el cromosoma 6 y/o 7, donde el fragmento de introgresión en el cromosoma 6 es detectable por uno o más de los marcadores SNP\_01 a SNP\_07 o, alternativamente, uno o más de los marcadores SNP\_1.23, SNP\_02, SNP\_2.24 o SNP\_03, o marcadores entre 35 cualquiera de ellos, (como se describe en otra parte del presente documento), y/o en el que el fragmento de introgresión en el cromosoma 7 es detectable por uno o más de los marcadores SNP\_08 a SNP\_14, o 40 marcadores entre ellos, (como se describe en otra parte del presente documento) que detectan el QTL7.2 o una variante del mismo y/o uno o más de los marcadores SNP\_15 a SNP\_22 o, alternativamente, SNP\_17, SNP\_17.25, SNP\_18 o SNP\_19, o marcadores entre cualquiera de ellos, (como se describe en este documento) que detecten el QTL7.1 o una variante del mismo, puede entonces fenotiparse para resistencia a Nr: 1 junto con las 45 plantas de control adecuadas, preferiblemente al menos el control genético y/o una planta susceptible a Nr:1 como Mafalda, con el fin de determinar si el fragmento de introgresión confiere efectivamente resistencia a Nr:1. Pueden utilizarse uno o más ensayos de resistencia a Nr:1 como los descritos.

Las accesiones de lechuga silvestre, como *L. virosa*, pueden obtenerse de la colección del Sistema Nacional de 50 Germoplasma Vegetal del USDA o de otras colecciones de semillas, como el CGN de Wageningen, y por lo tanto pueden examinarse para detectar la presencia del QTL6.1 (o una variante) y/o el QTL7.1 (o una variante) y/o el QTL7.2 (o una variante) utilizando, por ejemplo un ensayo de marcadores como el descrito en el presente documento, y las accesiones que comprenden uno o más de los marcadores SNP indicativos del QTL 6.1 o de una variante; y/o que comprenden uno o más de los marcadores SNP indicativos del QTL7.2 o de una variante; y/o que comprenden uno o más de los marcadores SNP indicativos del QTL7.1 o de una variante pueden cruzarse con una 55 planta de lechuga cultivada que tenga cromosomas 6 y 7 normales de tipo silvestre y no recombinantes. La generación F2 (o una generación posterior, como la F3 o, preferiblemente, una generación de retrocruzamiento como la BC1, BC2, BC3 o BC1S1, etc.) puede entonces examinarse para detectar plantas recombinantes que tengan el fragmento de introgresión o una parte que confiera resistencia, utilizando los ensayos de marcadores moleculares descritos en el presente documento. Alternativamente, las accesiones silvestres pueden ser 60 examinadas fenotípicamente utilizando un ensayo de resistencia a Nr:1 y sólo las plantas de progenie obtenidas de cruces con dichas accesiones silvestres pueden ser examinadas para detectar la presencia de los marcadores (y los fragmentos de introgresión).

En un aspecto específico descrito en el presente documento, el fragmento de introgresión que comprende el QTL6.1 que confiere resistencia a Nr: 1 y/o el QTL7.1 que confiere resistencia a Nr: 1 y/o el QTL7.2 que confiere resistencia a Nr: 1 es derivable de (o se deriva de) o se puede obtener de (o se obtiene de; o está presente en) semillas, una muestra representativa de las cuales se ha depositado con el número de acceso NCIMB42086, o de su progenie. La progenie puede ser cualquier progenie que conserve uno o más (o todos) los marcadores SNP indicativos de los QTL, tal como se ha descrito. Así, la progenie no se limita a la progenie F1 o F2 del depósito, sino que puede ser cualquier progenie, ya sea obtenida por autofecundación y/o por cruce con otra planta de lechuga.

En un aspecto descrito en el presente documento, el fragmento de introgresión es identificable por uno o más de los 55 marcadores descritos en el presente documento, especialmente los marcadores SNP\_01 a SNP\_07 (o cualquier marcador entre estos) para el fragmento de introgresión en el cromosoma 6 (QTL6.1 o variante) o alternativamente SNP\_1.23, SNP\_02, SNP\_2.24 y/o SNP\_03 (o cualquier marcador entre estos), opcionalmente también VSP1 o VSP3; y SNP\_08 a SNP\_14 (o cualquier marcador entre estos) para el fragmento de introgresión en el cromosoma 7 denominado QTL7.2 (o variante) y SNP\_15 a SNP\_22 (o cualquier marcador entre estos) o alternativamente 60 SNP\_17, SNP\_17.25, SNP\_18 y/o SNP\_19 (o cualquier marcador entre estos), opcionalmente VSP2 o VSP4, para el fragmento de introgresión en el cromosoma 7 denominado QTL7.1 (o variante).

En un aspecto se divulga una línea o variedad de planta de lechuga cultivada que tiene un genoma de *L. sativa* cuya línea o variedad comprende resistencia a Nr:1, en la que la resistencia a Nr:1 es conferida por un fragmento de introgresión en el cromosoma 6 y/o el cromosoma 7 de la lechuga cultivada, en el que dicho fragmento de introgresión se obtiene por (o se puede obtener por) el cruce de una planta de *L. virosa* resistente a Nr: 1 (que comprende uno o más de los marcadores aquí divulgados vinculados a los QTL) con una planta de lechuga cultivada.

En otro aspecto, se divulga una línea o variedad de planta de lechuga cultivada que tiene un genoma de *L. sativa*, cuya línea o variedad comprende resistencia a Nr:1, en la que la resistencia a Nr:1 es conferida por un fragmento de introgresión en el cromosoma 6 y/o en el cromosoma 7 de la lechuga cultivada, en el que dicho fragmento de introgresión se obtiene (o puede obtenerse) cruzando una planta cultivada a partir de semillas depositadas bajo el NCIMB 42086 o la progenie de esta planta (que comprende uno o más de los marcadores aquí divulgados vinculados a los QTL) con una planta de lechuga cultivada.

Otro aspecto descrito en el presente documento se refiere a una planta como la descrita, es decir, una planta cultivada de *L. sativa* que comprende un fragmento de introgresión de una lechuga silvestre en el cromosoma 6 y/o 7 en forma homocigótica o heterocigótica y en la que dicho fragmento de introgresión es una variante de la secuencia genómica que comprende el/los QTL tal como se encuentra en las semillas depositadas con el número NCIMB 42086, es decir, comprende el/los QTL Nr:1, pero la secuencia genómica puede ser diferente. Como las accesiones silvestres serán genéticamente divergentes, la secuencia genómica de un fragmento de introgresión que comprenda el QTL6.1 o el QTL7.1 o el QTL7.2 (estos QTL se denominan aquí también variantes u ortólogos de QTL6.1, QTL7.1 y QTL7.2) de otras accesiones de lechuga silvestre (por ejemplo, otras accesiones de *L. virosa* distintas de la depositada con el número de acceso NCIMB42086) muy probablemente no serán idénticas a la secuencia genómica, e incluso el gen que confiere resistencia Nr: 1 (que comprende un promotor, intrones y exones) puede ser divergente en la secuencia de nucleótidos, pero la función puede ser la misma, es decir, conferir resistencia a Nr:1. La divergencia puede verse en que ciertos marcadores SNP vinculados a la (variante) QTL6.1 y/o a la (variante) QTL7.1 y/o a la (variante) QTL7.2 pueden encontrarse comúnmente en varias accesiones, mientras que otros marcadores SNP pueden encontrarse sólo en accesiones específicas. Así, por ejemplo, no todos los SNP\_01 a SNP\_7, o no todos los SNP1.23, SNP\_02, SNP2.24 o SNP\_03, y/o SNP\_08 a SNP\_14 y/o SNP\_15 a SNP\_22, o SNP\_17, SNP17.25, SNP\_18 o SNP\_19, pueden encontrarse en otras lechugas silvestres resistentes a Nr:1 (por ejemplo, accesiones de *L. virosa*), mientras que estas accesiones pueden seguir comprendiendo variantes QTL en la misma región. Asimismo, la secuencia genómica que comprende cada uno de los marcadores SNP puede no ser 100% idéntica a la secuencia proporcionada en el presente documento, sino que sólo puede tener una identidad de secuencia de (al menos) 85%, 90%, 95%, 98% o 99% con respecto a la secuencia proporcionada en el presente documento, es decir, con respecto a cualquiera de los SEQ ID NO: 1 a SEQ ID NO: 22 y SEQ ID NO: 23 a 29. Sin embargo, la resistencia a Nr:1 que confiere el QTL6.1 (o variante) y el QTL7.1 (o variante) y el QTL7.2 (o variante, que comprende, por ejemplo, una variante u ortólogo del alelo Nr:1) puede seguir estando presente en dichas accesiones silvestres. El experto es capaz de identificar e introgresar los QTL 6.1 y/o 7.1 y/o 7.2 (variante) que comprenden la región encontrada en otras accesiones de lechuga silvestre (especialmente accesiones de *L. virosa*; en particular accesiones de *L. virosa* que comprenden tanto resistencia de libre elección como de no elección contra Nr:1) en la lechuga cultivada sin una carga excesiva.

En un aspecto descrito en el presente documento, la presencia del fragmento de introgresión, o la región del cromosoma 6 (o variante o región cromosómica 6 ortóloga), que comprende el QTL6.1 (o variante), es detectable mediante un ensayo de marcadores moleculares que detecta al menos 1, preferiblemente al menos 2, 3, 4, 5, 6, o más (o los 7) marcadores de polimorfismo de nucleótido único (SNP) seleccionados del grupo que consiste en:

- a) el genotipo AA o AT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_01 en SEQ ID NO: 1 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 1);
- b) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_02 en SEQ ID NO: 2 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:2);
- c) el genotipo AA o AC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_03 en SEQ ID NO: 3 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:3);
- d) el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_04 en SEQ ID NO: 4 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:4);
- e) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_05 en SEQ ID NO: 5 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:5);
- f) el genotipo CC o CA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_06 en SEQ ID NO: 6 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:6);
- g) el genotipo GG o GT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_07 en SEQ ID NO: 7 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:7);

h) cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre, como un marcador específico del genoma de *L. virosa*, entre el marcador SNP\_01 y el SNP\_07.

Así, en un aspecto, las plantas descritas en el presente documento comprenden al menos una adenina (A) (es decir, el genotipo AA o AT) en lugar de dos timinas (TT) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 1 (denominado SNP\_01) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprende una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 1; y/o al menos una citosina (C) (es decir, el genotipo CC o CT) en lugar de dos timinas (TT) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 2 (denominado SNP\_02) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO:2; y/o al menos una adenina (A) (es decir, el genotipo AA o AC) en lugar de dos citosinas (CC) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 3 (denominado SNP\_03) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO:3; y/o al menos una Guanina (G) (es decir, el genotipo GG o GA) en lugar de dos Adeninas (AA) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 4 (denominado SNP\_04) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO:4; y/o al menos una timina (T) (es decir, el genotipo TT o TC) en lugar de dos citosinas (CC) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 5 (denominado SNP\_05) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO:5; y/o al menos una citosina (C) (es decir, el genotipo CC o CA) en lugar de dos adeninas (AA) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 6 (denominado SNP\_06) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO:6; y/o al menos una Guanina (G) (es decir, el genotipo GG o GT) en lugar de dos Timinas (TT) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 7 (denominado SNP\_07) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:7.

En una realización, la presencia del fragmento de introgresión, o la región del cromosoma 6 (o variante o región cromosómica 6 ortóloga), que comprende el QTL6.1 (o variante), se detecta mediante un ensayo de marcadores moleculares que detecta al menos 1, preferiblemente al menos 2, 3 o 4 de los marcadores de polimorfismo de nucleótido único (SNP) seleccionados del grupo que consiste en:

- a) El genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP1.23 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 23;
- b) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_02 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 2;
- 30 c) el genotipo TT o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP2.24 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 24;
- d) el genotipo AA o AC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_03 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 3.

Así, en un aspecto, las plantas descritas en el presente documento comprenden al menos una citosina (C) (es decir, el genotipo CC o CT) en lugar de dos timinas (TT) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 23 (denominado SNP 1.23) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO:23; y/o al menos una citosina (C) (es decir, el genotipo CC o CT) en lugar de dos timinas (TT) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 2 (denominado SNP\_02) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO:2; y/o al menos una timina (T) (es decir, el genotipo TT o CT) en lugar de dos citosinas (CC) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 24 (denominado SNP2.24) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO:24; y/o al menos una adenina (A) (es decir, el genotipo AA o AC) en lugar de dos citosinas (CC) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 3 (denominado SNP\_03) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:3.

45 En un aspecto descrito en el presente documento, la presencia del fragmento de introgresión, o la región del cromosoma 7 (o variante o región cromosómica 7 ortóloga), que comprende el QTL7.2 (o variante), es detectable mediante un ensayo de marcadores moleculares que detecta al menos 1, preferiblemente al menos 2, 3, 4, 5, 6, o más (o los 7) marcadores de polimorfismo de nucleótido único (SNP) seleccionados del grupo que consiste en:

- 50 a) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_08 en SEQ ID NO: 8 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:8);
- b) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_09 en SEQ ID NO: 9 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:9);
- c) el genotipo AA o AG para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_10 en SEQ ID NO: 10 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:10);
- 55 d) el genotipo CC o CA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP-11 en SEQ ID NO: 11 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:11);

- e) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_12 en SEQ ID NO: 12 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:12);
- f) el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_13 en SEQ ID NO: 13 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:13);
- 5 g) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_14 en SEQ ID NO: 14 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:14);
- h) cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre, como un marcador específico del genoma de *L. virosa* , entre el marcador SNP\_08 y el SNP\_14.

10 Así, en un aspecto, las plantas descritas en el presente documento comprenden al menos una timina (T) (es decir, el genotipo TT o TC) en lugar de dos citosinas (CC) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 8 (denominado SNP\_08) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO:8; y/o al menos una citosina (C) (es decir, el genotipo CC o CT) en lugar de dos timinas (TT) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 9 (denominado SNP\_09) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO:9; y/o al menos una adenina (A) (es decir, el genotipo AA o AG) en lugar de dos guaninas (GG) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 10 (denominado SNP\_10) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO:10; y/o al menos una citosina (C) (es decir, el genotipo CC o CA) en lugar de dos adeninas (AA) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 11 (denominado SNP\_11) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO:11; y/o al menos una citosina (C) (es decir, el genotipo CC o CT) en lugar de dos timinas (TT) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 12 (denominado SNP\_12) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO:12; y/o al menos una Guanina (G) (es decir, el genotipo GG o GA) en lugar de dos Adeninas (AA) en el nucleótido 136 de SEQ ID NO: 13 (denominado SNP\_13) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO:13; y/o al menos una citosina (C) (es decir, el genotipo CC o CT) en lugar de dos timinas (TT) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 14 (denominado SNP\_14) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 14.

15

20

25

30 En un aspecto descrito en el presente documento, la presencia del fragmento de introgresión, o la región del cromosoma 7 (o variante o región cromosómica 7 ortóloga), que comprende el QTL7.1 (o variante), es detectable mediante un ensayo de marcadores moleculares que detecta al menos 1, preferentemente al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7 o más (o los 8) marcadores de polimorfismo de nucleótido único (SNP) seleccionados del grupo que consiste en:

- a) el genotipo TT o TA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_15 en SEQ ID NO: 15 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 15);
- b) el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_16 en SEQ ID NO: 16 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 16);
- 35 c) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_17 en SEQ ID NO: 17 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 17);
- d) el genotipo GG o GC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_18 en SEQ ID NO: 18 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 18);
- 40 e) el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_19 en SEQ ID NO: 19 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 19);
- f) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_20 en SEQ ID NO: 20 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:20);
- 45 g) el genotipo CC o CA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_21 en SEQ ID NO: 21 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:21);
- h) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_22 en SEQ ID NO: 22 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:22);
- i) cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre, como un marcador específico del genoma de *L. virosa* , entre el marcador SNP\_15 y el SNP\_22.

50 Así, en un aspecto, las plantas descritas en el presente documento comprenden al menos una timina (T) (es decir, el genotipo TT o TA) en lugar de dos adeninas (CC) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 15 (denominado SNP\_15) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 15; y/o al menos una Guanina (G) (es decir, el genotipo GG o GA) en lugar de dos Adeninas (AA) en el

nucleótido 71 de SEQ ID NO: 16 (denominado SNP\_16) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprende una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 16; y/o al menos una timina (T) (es decir, el genotipo TT o TC) en lugar de dos citosinas (CC) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 17 (denominado SNP\_17) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprende una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 17; y/o al menos una Guanina (G) (es decir, el genotipo GG o GC) en lugar de dos Citosinas (CC) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 18 (denominado SNP\_18) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprende una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 18; y/o al menos una Guanina (G) (es decir, el genotipo GG o GA) en lugar de dos Adeninas (AA) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 19 (denominado SNP\_19) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprende una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 19; y/o al menos una timina (T) (es decir, el genotipo TT o TC) en lugar de dos citosinas (CC) en el nucleótido 72 de SEQ ID NO: 20 (denominado SNP\_20) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 20; y/o al menos una citosina (C) (es decir, el genotipo CC o CA) en lugar de dos adeninas (AA) en el nucleótido 41 de SEQ ID NO: 21 (denominado SNP\_21) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 21; y/o al menos una citosina (C) (es decir, el genotipo CC o CT) en lugar de dos timinas (TT) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 22 (denominado SNP\_22) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO: 22.

En una realización, la presencia del fragmento de introgresión, o la región del cromosoma 7 (o variante o región cromosómica 7 ortóloga), que comprende el QTL7.1 (o variante), se detecta mediante un ensayo de marcadores moleculares que detecta al menos 1, preferiblemente al menos 2, 3, 4 de los marcadores de polimorfismo de nucleótido único (SNP) seleccionados del grupo que consiste en:

- a) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_17 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 17;
- b) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP 17.25 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 25;
- c) el genotipo GG o GC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_18 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 18;
- d) el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_19 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 19.

Así, en un aspecto, las plantas descritas en el presente documento comprenden al menos una timina (T) (es decir, el genotipo TT o TC) en lugar de dos citosinas (CC) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 17 (denominado SNP\_17) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprende una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 17; al menos una timina (T) (es decir, el genotipo TT o TC) en lugar de dos citosinas (CC) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 25 (denominado SNP17.25) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO:25; y/o al menos una Guanina (G) (es decir, el genotipo GG o GC) en lugar de dos Citosinas (CC) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 18 (denominado SNP\_18) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO:18; y/o al menos una Guanina (G) (es decir, el genotipo GG o GA) en lugar de dos Adeninas (AA) en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 19 (denominado SNP\_19) o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprende una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 19.

El genotipo SNP se refiere a dos nucleótidos y a las secuencias genómicas que comprenden uno de estos dos nucleótidos, uno en cada cromosoma 6 (para SNP\_01 a SNP\_07 o para SNP1.23, SNP\_02, SNP2.24 o SNP\_03) o 7 (para SNP\_08 a SNP\_14 y SNP\_15 a SNP\_22 o para SNP\_17, SNP17.25, SNP\_18 o SNP\_19). Así, una planta con genotipo CC para el SNP\_22 tiene un nucleótido idéntico (C) en ambos cromosomas, mientras que una planta con genotipo CT para el SNP\_22 tiene un cromosoma con una C en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 22 (o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:22) y un cromosoma con una T en el nucleótido 71 de la SEQ ID NO: 22 (o en el nucleótido equivalente de una secuencia genómica que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:22). Dado que las secuencias genómicas en torno a los marcadores SNP aquí proporcionados pueden variar ligeramente en los fragmentos de introgresión de otras accesiones de lechuga silvestre (es decir, variantes o regiones cromosómicas 6 o 7 ortólogas), es evidente que las secuencias de nucleótidos antes y después del SNP pueden no ser 100% idénticas a las secuencias aquí proporcionadas. Por lo tanto, las secuencias que tienen una identidad de secuencia sustancial con las secuencias proporcionadas en este documento, pero que comprenden el mismo SNP, están incluidas en este documento. También está claro que en ciertos aspectos la introgresión es en forma homocigótica, y el genotipo del marcador SNP es entonces el genotipo homocigótico para el QTL.

El fragmento de introgresión puede ser grande, incluso la mitad de un cromosoma, o pequeño, tan largo como el Nr: Se mantiene 1 parte que confiere resistencia. En un aspecto, el fragmento de introgresión en el cromosoma 6 y/o 7 tiene un tamaño igual o inferior a 120Mb, 100Mb, 84Mb, 80Mb, 75Mb, 74Mb, 73Mb, 60Mb, 50Mb, 40Mb, 30Mb, 20Mb, 16Mb, 15Mb, 10 Mb, preferentemente igual o inferior a 8 Mb, más preferentemente igual o inferior a 6, 5, 4, 3

o 2,5 Mb, por ejemplo igual o inferior a 2Mb. En un aspecto, el fragmento de introgresión tiene un tamaño de al menos 0,2 Mb, 0,5 Mb, 1,0 Mb, 1,5 Mb, 1,9 Mb, 2,0 Mb, 2,5 Mb o 3 Mb. Por lo tanto, en el presente documento se abarcan varios rangos de tamaños de introgresión. El tamaño puede determinarse fácilmente, por ejemplo, mediante la secuenciación del genoma completo o la secuenciación de próxima generación, como se describe en Qi et al. 5 2013 (Nature Genetics diciembre de 2013, Vol 45, nº 12, páginas 1510-1518) o en Huang et al. 2009 (Nature Genetics, Volumen 41, Número 12, p1275-1283). Especialmente las regiones de introgresión pueden distinguirse fácilmente de las regiones genómicas cultivadas debido a la mayor cantidad de variación genética (SNPs, INDELs, etc.) en la región de introgresión.

10 El experto sabe cómo examinar e identificar lechugas silvestres, por ejemplo, *L. virosa*, para detectar la presencia de cualquiera de los QTL u ortólogos o variantes descritos en el presente documento. Por ejemplo, varias accesiones de *L. virosa* pueden seleccionarse primero fenotípicamente mediante el ensayo de su resistencia a Nr: 1, especialmente la resistencia de libre elección y/o la resistencia de no elección y, en un aspecto, seleccionar aquellas 15 accesiones que comprenden tanto la resistencia de libre elección como la de no elección. Alternativamente, varias accesiones de *L. virosa* pueden ser examinadas directamente para detectar la presencia de uno o más de los marcadores SNP (o marcadores entre los marcadores SNP) descritos en el presente documento. Una vez que se ha identificado una lechuga silvestre candidata, por ejemplo, *L. virosa*, la persona experta sabe cómo transferir uno, dos o los tres QTL divulgados en el presente documento de la lechuga silvestre a la lechuga cultivada utilizando 20 técnicas tradicionales de mejora. Por ejemplo, las plantas cultivadas a partir de las accesiones silvestres, como las plantas cultivadas a partir de semillas depositadas (NCIMB42086), pueden cruzarse con una planta de lechuga cultivada para obtener semillas F1. Las plantas F1 pueden autofecundarse una o más veces para producir plantas F2 o F3 (o más generaciones de autofecundación), y/o las plantas F1, F2 o F3, etc., pueden retrocruzarse con un progenitor de lechuga cultivada. Las plantas de la progenie que comprenden el QTL6.1 (o la variante) y/o el QTL7.1 25 (o la variante) y/o el QTL7.2 (o la variante) pueden cribarse y seleccionarse por la presencia de uno o varios o todos los marcadores SNP mencionados (o los marcadores situados entre cualquiera de esos marcadores) a fin de identificar las plantas que comprenden un cromosoma recombinante 6 y/o 7, que comprende el o los QTL. Puede ser necesario utilizar técnicas como el rescate de embriones para obtener la progenie de cruces interespecíficos (por ejemplo, entre *L. sativa* y *L. virosa*).

30 En otro aspecto descrito en el presente documento, la presencia del fragmento de introgresión en una planta de lechuga cultivada, o la región del cromosoma 6 (o región cromosómica 6 ortóloga), que comprende el QTL6.1 (o variante), es detectable mediante un ensayo de marcadores moleculares que detecta al menos uno de los marcadores seleccionados del grupo que consiste en:

- 35 a) el genotipo AA o AT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_01 en SEQ ID NO:1(o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 1);
- b) el genotipo GG o GT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_07 en SEQ ID NO: 7 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:7);
- c) cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre entre el marcador SNP\_01 y el SNP\_07;
- d) cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre que esté vinculado genéticamente dentro de 7 cM, 5 cM, 3 cM o menos de cualquiera de los marcadores SNP\_01 a SNP\_07; y
- e) cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre que esté físicamente vinculado en un radio de 5Mb, 3Mb, 2Mb, 1Mb, 0,5 Mb o 0,2 Mb o menos de cualquiera de los marcadores SNP\_01 a SNP\_07.

40 En un aspecto descrito en el presente documento, los marcadores de c) son uno o más de SNP\_02 a SNP\_06.

45 En un aspecto descrito en el presente documento, se detectan al menos uno, dos, al menos tres, al menos cuatro o más marcadores de los marcadores de a), b) y/o c) anteriores. En otro aspecto, se detectan al menos uno, dos, al menos tres, al menos cuatro o más marcadores de los marcadores de a), b), c), d) y/o e) anteriores. En un aspecto descrito en el presente documento se detecta al menos el marcador de a) y/o b) y opcionalmente se detectan al menos uno, dos, tres o más marcadores de c), d) y/o e). En un aspecto se detectan al menos 1, 2 o 3 marcadores de c), especialmente al menos SNP\_04, SNP\_05 y/o SNP\_06.

50 Cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre (por ejemplo, específico del genoma de *L. virosa* ) entre el marcador de a) y b) se refiere a cualquier marcador molecular que mapea genéticamente a la región del cromosoma 6 entre el marcador SNP\_01 y SNP\_07 y/o que se encuentra físicamente entre el marcador SNP\_01 y SNP\_07, y que es indicativo de la región del cromosoma 6 de la lechuga silvestre. Esto significa que el marcador es polimórfico entre el genoma de la lechuga cultivada y el genoma de la lechuga silvestre. En un aspecto descrito en el presente documento, el marcador es un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP), pero también pueden utilizarse otros marcadores moleculares como RFLP, AFLP, RAPD, secuenciación de ADN, etc.

55 En un aspecto alternativo descrito en el presente documento, la presencia del fragmento de introgresión en una planta de lechuga cultivada, o la región del cromosoma 6 (o región cromosómica 6 ortóloga), que comprende el

QTL6.1 (o variante), es detectable mediante un ensayo de marcadores moleculares que detecta al menos uno de los marcadores seleccionados del grupo que consiste en:

- a) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP1.23 en SEQ ID NO: 23 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:23);
- 5 b) el genotipo AA o AC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_03 en SEQ ID NO: 3 o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 3;
- c) cualquier marcador específico del genoma de *L. virosa*, situado físicamente entre el marcador SNP 1.23 y el SNP\_03.
- 10 d) cualquier marcador específico del genoma de *L. virosa* que esté físicamente vinculado en un radio de 10Mb, 5Mb, 3Mb, 2Mb, 1Mb, 0,5 Mb o 0,2 Mb o menos de cualquiera de los marcadores SNP1.23 a SNP\_03.

En un aspecto descrito en el presente documento los marcadores de c) son uno o más de SNP\_02, SNP2.24, VSP1, VSP3.

En un aspecto descrito en el presente documento, se detectan al menos uno, dos, al menos tres, al menos cuatro o más marcadores de los marcadores de a), b) y/o c) anteriores. En otro aspecto, se detectan al menos uno, dos, al menos tres, al menos cuatro o más marcadores de los marcadores de a), b), c), y/o d) anteriores. En un aspecto descrito en el presente documento se detecta al menos el marcador de a) y/o b) y opcionalmente se detectan al menos uno, dos, tres o más marcadores de c) y/o d). En un aspecto descrito en el presente documento se detectan al menos 1, 2 o 3 marcadores de c), especialmente al menos SNP\_02 y/o SNP2.24.

20 Cualquier marcador específico del genoma de *L. virosa* significa que el marcador es indicativo del fragmento de introgresión y de la presencia del genoma de *L. virosa*, es decir, el marcador es polimórfico entre el genoma de la lechuga cultivada y el genoma silvestre de *L. virosa*. En un aspecto, el marcador es un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP), pero también pueden utilizarse otros marcadores moleculares como RFLP, AFLP, RAPD, secuenciación de ADN, etc.

25 Asimismo, en un aspecto descrito en el presente documento, la presencia del fragmento de introgresión en una planta de lechuga cultivada, o la región del cromosoma 7 (o región cromosómica 7 ortóloga), que comprende el QTL7.2 (o variante), es detectable mediante un ensayo de marcadores moleculares que detecta al menos uno de los marcadores seleccionados del grupo que consiste en:

- a) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_08 en SEQ ID NO: 8 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:8);
- 30 b) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_14 en SEQ ID NO: 14 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO:8);
- c) cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre entre el marcador SNP\_08 y el SNP\_14;
- d) cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre que esté vinculado genéticamente dentro de 7 cM, 5 cM, 3 cM o menos de cualquiera de los marcadores SNP\_08 a SNP\_14; y
- 35 e) cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre que esté físicamente vinculado en un radio de 5Mb, 3Mb, 2Mb, 1Mb, 0,5 Mb o 0,2 Mb o menos de cualquiera de los marcadores SNP\_08 a SNP\_14.

En un aspecto descrito en el presente documento, los marcadores de c) son uno o más de SNP\_09 a SNP\_13.

En un aspecto descrito en el presente documento, se detectan al menos uno, dos, al menos tres, al menos cuatro o más marcadores de los marcadores de a), b) y/o c) anteriores. En otro aspecto, se detectan al menos uno, dos, al menos tres, al menos cuatro o más marcadores de los marcadores de a), b), c), d) y/o e) anteriores. En un aspecto descrito en el presente documento se detecta al menos el marcador de a) y/o b) y opcionalmente se detectan al menos uno, dos, tres o más marcadores de c), d) y/o e). En un aspecto se detectan al menos 1, 2 o 3 marcadores de c), especialmente SNP\_09, SNP\_10 y/o SNP\_11.

45 Cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre (por ejemplo, específico del genoma de *L. virosa* ) entre el marcador de a) y b) se refiere a cualquier marcador molecular que mapea genéticamente a la región del cromosoma 6 entre el marcador SNP\_08 y SNP\_14 y/o que se encuentra físicamente entre el marcador SNP\_08 y SNP\_14, y que es indicativo de la región del cromosoma 7 de la lechuga silvestre. Esto significa que el marcador es polimórfico entre el genoma de la lechuga cultivada y el genoma de la lechuga silvestre. En un aspecto, el marcador es un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP), pero también pueden utilizarse otros marcadores moleculares como RFLP, AFLP, RAPD, secuenciación de ADN, etc.

50 Asimismo, en un aspecto descrito en el presente documento, la presencia del fragmento de introgresión en una planta de lechuga cultivada, o la región del cromosoma 7 (o región cromosómica 7 ortóloga), que comprende el

QTL7.1 (o variante), es detectable mediante un ensayo de marcadores moleculares que detecta al menos uno de los marcadores seleccionados del grupo que consiste en:

- a) el genotipo TT o TA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_08 en SEQ ID NO: 15 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 15);
- 5 b) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_14 en SEQ ID NO: 22 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con la SEQ ID NO: 22);
- c) cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre entre el marcador SNP\_15 y el SNP\_22;
- d) cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre que esté vinculado genéticamente dentro de 7 cM, 5 cM, 3 cM o menos de cualquiera de los marcadores SNP\_15 a SNP\_22; y
- 10 e) cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre que esté físicamente vinculado en un radio de 5Mb, 3Mb, 2Mb, 1Mb, 0,5 Mb o 0,2 Mb o menos de cualquiera de los marcadores SNP\_15 a SNP\_22.

En un aspecto descrito en el presente documento, los marcadores de c) son uno o más de SNP\_16 a SNP\_21.

En un aspecto descrito en el presente documento, se detectan al menos uno, dos, al menos tres, al menos cuatro o más marcadores de los marcadores de a), b) y/o c) anteriores. En otro aspecto, se detectan al menos uno, dos, al menos tres, al menos cuatro o más marcadores de los marcadores de a), b), c), d) y/o e) anteriores. En un aspecto descrito en el presente documento se detecta al menos el marcador de a) y/o b) y opcionalmente se detectan al menos uno, dos, tres o más marcadores de c), d) y/o e). En un aspecto se detectan al menos 1, 2 o 3 marcadores de c), especialmente SNP\_19, SNP\_20 y/o SNP\_21.

20 Cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre (por ejemplo, específico del genoma de *L. virosa* ) entre el marcador de a) y b) se refiere a cualquier marcador molecular que mapea genéticamente a la región del cromosoma 6 entre el marcador SNP\_15 y SNP\_22 y/o que se encuentra físicamente entre el marcador SNP\_15 y SNP\_22, y que es indicativo de la región del cromosoma 7 de la lechuga silvestre. Esto significa que el marcador es polimórfico entre el genoma de la lechuga cultivada y el genoma de la lechuga silvestre. En un aspecto, el marcador es un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP), pero también pueden utilizarse otros marcadores moleculares como RFLP, AFLP, RAPD, secuenciación de ADN, etc.

En un aspecto alternativo descrito en el presente documento, la presencia del fragmento de introgresión en una planta de lechuga cultivada, o la región cromosómica 7 (o región cromosómica 7 ortóloga), que comprende el QTL7.1 (o variante), es detectable mediante un ensayo de marcadores moleculares que detecta al menos uno de los marcadores seleccionados del grupo que consiste en:

- 30 a) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_17 en SEQ ID NO: 17 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 17);
- b) el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_19 en SEQ ID NO: 19 (o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 19);
- 35 c) cualquier marcador específico del genoma de *L. virosa* , situado físicamente entre el marcador SNP\_17 y el SNP\_19.
- d) cualquier marcador específico del genoma de *L. virosa* que esté físicamente vinculado en un radio de 12Mb, 10Mb, 5Mb, 3Mb, 2Mb, 1Mb, 0,5 Mb o 0,2 Mb o menos de cualquiera de los marcadores SNP\_17 a SNP\_19.

En un aspecto los marcadores de c) son uno o más de SNP17.25, SNP\_18, VSP4.

En un aspecto descrito en el presente documento, el marcador de d) es VSP2 o SNP\_16.

40 En un aspecto descrito en el presente documento, se detectan al menos uno, dos, al menos tres, al menos cuatro o más marcadores de los marcadores de a), b) y/o c) anteriores. En otro aspecto, se detectan al menos uno, dos, al menos tres, al menos cuatro o más marcadores de los marcadores de a), b), c), y/o d) anteriores. En un aspecto descrito en el presente documento se detecta al menos el marcador de a) y/o b) y opcionalmente se detectan al menos uno, dos, tres o más marcadores de c) y/o d). En un aspecto se detectan al menos 1, 2 o 3 marcadores de c), especialmente al menos el SNP17.25 y/o el SNP\_18.

45 Cualquier marcador específico del genoma de *L. virosa* significa que el marcador es indicativo del fragmento de introgresión y de la presencia del genoma de *L. virosa*, es decir, el marcador es polimórfico entre el genoma de la lechuga cultivada y el genoma de la lechuga silvestre. En un aspecto, el marcador es un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP), pero también pueden utilizarse otros marcadores moleculares como RFLP, AFLP, RAPD, secuenciación de ADN, etc.

También se divultan las semillas a partir de las cuales se puede cultivar una planta descrita en el presente documento, así como las hojas de lechuga (o partes de las mismas) y las cabezas cosechadas de una planta descrita en el presente documento y que comprenden el cromosoma recombinante 6 y/o 7 en su genoma. Asimismo, se divulga una célula vegetal, un tejido o una parte vegetal de una planta o de una semilla que comprende al menos un cromosoma recombinante 6 y/o 7, en el que dicho cromosoma recombinante 6 y/o 7 comprende un fragmento de introgresión de una lechuga silvestre y en el que dicho fragmento de introgresión comprende un QTL que confiere resistencia a Nr:1.

Los marcadores moleculares descritos en el presente documento pueden detectarse según un procedimiento estándar. Por ejemplo, los marcadores SNP pueden detectarse fácilmente mediante un ensayo KASP (véase [www.kpbioscience.co.uk](http://www.kpbioscience.co.uk)) u otros ensayos. Para desarrollar un ensayo KASP, se pueden seleccionar, por ejemplo, 70 pares de bases aguas arriba y 70 pares de bases aguas abajo del SNP y diseñar dos cebadores delanteros específicos del alelo y un cebador inverso específico del alelo. Véase, por ejemplo Allen et al. 2011, Plant Biotechnology J. 9, 1086-1099, especialmente p097-1098 para el procedimiento de ensayo KASP.

Así, en un aspecto, los marcadores SNP y la presencia/ausencia del marcador asociado con el/los QTL se determina utilizando un ensayo KASP, pero igualmente se pueden utilizar otros ensayos. Por ejemplo, opcionalmente también se puede utilizar la secuenciación del ADN.

El tamaño físico de un fragmento de introgresión puede determinarse mediante diversos procedimientos, como la cartografía física, la secuenciación o la visualización de la introgresión mediante imágenes de hibridación *in situ* fluorescente (FISH) (Verlaan et al. 2011, Plant Journal 68: 1093-1103).

Las plantas con fragmentos de introgresión de varios tamaños en el cromosoma 6 y/o 7 pueden generarse generando plantas recombinantes a partir de una población de plantas derivadas de un cruce entre una planta de lechuga cultivada (que carece de las introgresiones) y una planta de *L. virosa* resistente a Nr:1 o entre la lechuga cultivada y una planta divulgada en el presente documento (una lechuga cultivada que comprende un cromosoma 6 y/o 7 recombinante) y seleccionando la progenie que tiene diferentes tamaños de introgresión.

## 25 Procedimientos

En el presente documento se describen varios procedimientos, a saber:

- 1) Un procedimiento para identificar una planta de lechuga silvestre, especialmente una accesión de *L. virosa*, que comprenda uno o más de los QTL6.1, QTL7.1 y/o QTL7.2 (o variantes de cualquiera de ellos);
- 2) un procedimiento para transferir uno o más de los QTL seleccionados de QTL6.1, QTL7.1 y/o QTL7.2 (o variantes de cualquiera de ellos) de una planta de lechuga silvestre (por ejemplo, *L. virosa*) a la lechuga cultivada(*L. sativa*) para generar una lechuga cultivada resistente a Nr: 1;
- 3) un procedimiento de cribado de líneas o variedades de lechuga cultivadas para detectar la presencia de uno o más de los QTL seleccionados entre QTL6.1, QTL7.1 y/o QTL7.2 (o variantes de cualquiera de ellos); y
- 4) un procedimiento para transferir uno o más de los QTL seleccionados de QTL6.1, QTL7.1 y/o QTL7.2 (o variantes de cualquiera de ellos) de una lechuga cultivada(*L. sativa*) a otra lechuga cultivada, por ejemplo a una línea o variedad de planta de lechuga susceptible a Nr: 1;
- 5) un procedimiento para utilizar las semillas depositadas con el número de acceso NCIMB42086, o sus descendientes, para generar lechuga cultivada resistente a Nr: 1;
- 6) un procedimiento de cultivo de plantas divulgado en el presente documento, es decir, el nº: 1 plantas de *L. sativa* resistentes que comprenden uno o más de los QTL seleccionados entre QTL6.1, QTL7.1 y/o QTL7.2 (o variantes de cualquiera de ellos), en zonas en las que está presente el biotipo Nr: 1 de *N. ribisnigri*.

### Procedimiento para identificar lechugas silvestres que comprenden uno o más de los QTL6.1 y/o QTL7.1

En un aspecto se proporciona un procedimiento para identificar plantas de lechuga silvestre que comprenden QTL6.1 y/o QTL7.1, que comprende las etapas de:

- a) proporcionar una planta de lechuga silvestre o una pluralidad de plantas de lechuga silvestre;
- b) opcionalmente, analizar la planta de lechuga silvestre o la pluralidad de plantas para determinar la resistencia a Nr:1 en un ensayo de resistencia a Nr: 1;
- c) cribado del ADN genómico de la planta o pluralidad de plantas de a), u opcionalmente sólo de la planta o plantas resistentes a Nr: 1 identificadas en b), para detectar la presencia de uno o más marcadores indicativos del QTL6.1 y/o indicativos del QTL7.1;
- d) identificar una planta que comprenda uno o más de dichos marcadores de c);

5 e) opcionalmente, probar la planta de d) para determinar la resistencia a Nr:1 en un ensayo de resistencia a Nr: 1;

en el que los marcadores indicativos del QTL6.1 se seleccionan del grupo que consiste en

el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP1.23 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 23;

el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_02 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 2;

el genotipo TT o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP2.24 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 24;

10 el genotipo AA o AC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_03 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 3;

el genotipo GG o GT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido VSP1 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 26;

15 el genotipo AA o AC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido VSP3 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 27

y en el que los marcadores indicativos de QTL7.1 se seleccionan del grupo que consiste en

- el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_17 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 17;

- el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP 17.25 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 25;

- el genotipo GG o GC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_18 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 18;

- el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_19 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 19;

25 - el genotipo CC o AC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido VSP2 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 28;

- el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido VSP4 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 29.

30 Se describe que, opcionalmente, el procedimiento comprende además la introgresión del QTL6.1 y/o del QTL7.1 en lechugas cultivadas, especialmente en lechuga susceptible a Nr: 1, y generando una planta de *L. sativa* que comprenda resistencia a Nr:1 conferida por uno o más de los fragmentos de introgresión. Esto puede hacerse, por ejemplo, mediante un retrocruzamiento. Opcionalmente se puede utilizar la selección asistida por marcadores.

La planta o plantas de la etapa a) son preferentemente *L. virosa*, por ejemplo, originarias de diferentes regiones geográficas.

35 En la etapa b) o e) puede realizarse un ensayo fenotípico de resistencia a Nr: (por ejemplo, una prueba de campo o una prueba en un entorno controlado) para seleccionar las plantas que son resistentes a Nr:1 y que, por lo tanto, supuestamente comprenden uno o más de los QTL. El ensayo de resistencia a Nr: 1 puede ser un ensayo de libre elección y/o de no elección.

40 También se divulga en el presente documento que el ADN genómico en la etapa c) puede ser cribado para detectar la presencia de uno o más marcadores indicativos de QTL6.1 o una variante del mismo, como se describe más arriba, por ejemplo, determinando la presencia de uno o más marcadores seleccionados del grupo que consiste en:

45 a) el genotipo AA o AT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_01 en SEQ ID NO: 1 o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 1; y/o

b) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_02 en SEQ ID NO: 2 o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 2; y/o

c) el genotipo AA o AC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_03 en SEQ ID NO: 3 o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 3; y/o

d) el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_04 en SEQ ID NO: 4 o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 4; y/o

e) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_05 en SEQ ID NO: 5 o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 5; y/o

5 f) el genotipo CC o CA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_06 en SEQ ID NO: 6 o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 6; y/o

g) el genotipo GG o GT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_07 en SEQ ID NO: 7 o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 7; y/o

10 h) cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre, especialmente del *genoma de L. virosa*, situado físicamente entre el SNP\_01 y el SNP\_07, por ejemplo, entre dos marcadores cualesquiera del SNP\_01 al SNP\_07.

También se divulga en el presente documento que el ADN genómico en la etapa c) puede ser cribado para detectar la presencia de uno o más marcadores indicativos de QTL7.2 o una variante del mismo, como se describe más arriba, por ejemplo, determinando la presencia de uno o más marcadores seleccionados del grupo que consiste en:

15 a) el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_08 en SEQ ID NO: 8 o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 8;

b) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_09 en SEQ ID NO: 9 o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 9;

20 c) el genotipo AA o AG para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_10 en SEQ ID NO: 10 o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 10;

d) el genotipo CC o CA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_11 en SEQ ID NO: 11 o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 11;

e) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_12 en SEQ ID NO: 12 o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 12;

25 f) el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_13 en SEQ ID NO: 13 o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 13;

g) el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_14 en SEQ ID NO: 14 o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 14;

30 i) h) cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre, especialmente del *genoma de L. virosa*, situado físicamente entre el SNP\_08 y el SNP\_14, por ejemplo, entre dos marcadores cualesquiera del SNP\_08 al SNP\_14.

También se divulga en el presente documento que el ADN genómico en la etapa c) puede ser cribado para detectar la presencia de uno o más marcadores indicativos de QTL7.1 o una variante del mismo, como se describe más arriba, por ejemplo, determinando la presencia de uno o más marcadores seleccionados del grupo que consiste en:

35 i. el genotipo TT o TA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_15 en SEQ ID NO: 15 o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 15;

ii. el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_16 en SEQ ID NO: 16 o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 16;

40 iii. el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_17 en SEQ ID NO: 17 o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 17;

iv. el genotipo GG o GC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_18 en SEQ ID NO: 18 o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 18;

v. el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_19 en SEQ ID NO: 19 o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 19;

45 vi. el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_20 en SEQ ID NO: 20 o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 20;

vii. el genotipo CC o CA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_21 en SEQ ID NO: 21 o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 21;

viii. el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_22 en SEQ ID NO: 22 o en una secuencia que comprenda una identidad de secuencia sustancial con SEQ ID NO: 22;

5 ix. cualquier marcador específico del genoma de la lechuga silvestre, especialmente del *genoma de L. virosa*, situado físicamente entre el SNP\_15 y el SNP\_22, por ejemplo, entre dos marcadores cualesquiera del SNP\_15 al SNP\_22.

El cribado de marcadores puede realizarse mediante cualquier técnica adecuada o combinación de técnicas conocidas por el experto, por ejemplo, basada en la PCR, en la secuenciación, etc. Se entiende que el cribado del ADN genómico puede realizarse en plantas, partes de plantas, semillas o en ADN genómico aislado de las mismas.

10 También se divulga en el presente documento que en la etapa d) del procedimiento se identifica una planta que comprende uno o más de los marcadores, por ejemplo, al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6 o todos los 7 de SNP\_01 a SNP\_07 y/o cualquier marcador entre SNP\_01 y SNP\_07; o alternativamente uno o más de los marcadores de SNP1.23, SNP\_02, SNP2.24 o SNP\_03 y/o cualquier marcador entre SNP1.23 y SNP\_03; al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6 o los 7 de SNP\_08 a SNP\_14 y/o cualquier marcador entre SNP\_08 y SNP\_14; al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 o los 8 de SNP\_15 a SNP\_22 y/o cualquier marcador entre SNP\_15 y SNP\_22; o alternativamente SNP\_17, SNP17.25, SNP\_18 o SNP\_19 o cualquier marcador entre SNP\_17 y SNP\_19.

15 Así, en un aspecto, un procedimiento para generar una planta de lechuga cultivada que comprende Nr: Se describe en el presente documento una resistencia que comprende las etapas de:

- 20 a) Proporcionar una lechuga silvestre, especialmente una planta de *Lactuca virosa* que comprenda 1, 2, 3, 4, 5 o más marcadores SNP indicativos del QTL6.1 (o variante); y/o 1, 2, 3, 4, 5 o más marcadores SNP indicativos del QTL7.2 (o variante) y/o 1, 2, 3, 4, 5 o más marcadores SNP indicativos del QTL7.1 (o variante);
- b) Cruzar dicha lechuga silvestre, especialmente dicha planta de *Lactuca virosa*, con una planta de lechuga cultivada, que es susceptible contra el pulgón Nr:1 de la lechuga, para producir semillas F1;
- c) Opcionalmente, autofecundar las plantas cultivadas a partir de semillas F1 una o más veces para producir progenie F2, F3 o autofecundada de otra generación;
- 25 d) Cruzar dicha progenie F1 o de autofecundación de más generaciones con la planta de lechuga cultivada de la etapa b), para producir una progenie retrocruzada;
- e) Seleccionar la progenie de retrocruzamiento que comprenda la resistencia contra el biotipo Nr:1.

También se describe en el presente documento una planta de lechuga producida por el procedimiento.

30 **Procedimiento para transferir uno o más de los QTL seleccionados de QTL6.1, QTL7.1 y/o QTL7.2 (o sus variantes) de una lechuga silvestre (por ejemplo, L. virosa) a una lechuga cultivada (L. sativa) para generar una lechuga cultivada resistente a Nr: 1**

35 En otro aspecto, un procedimiento para transferir uno o más de los QTL seleccionados de QTL6.1, QTL7.1 y/o QTL7.2 (o variantes de los mismos) de una lechuga silvestre (por ejemplo, *L. virosa*) a una lechuga cultivada (*L. sativa*) para generar un Nr: En el presente documento se describen lechugas cultivadas resistentes a 1, que comprenden:

- a) proporcionar una planta de lechuga silvestre que comprenda el QTL6.1, el QTL7.1 y/o el QTL7.2 (o sus variantes);
- b) cruzar la planta de lechuga silvestre de a) con una planta de lechuga cultivada para generar una F1;
- c) opcionalmente, autofecundar la F1 una o más veces para generar más progenie autofecundada;
- 40 d) retrocruzar la progenie F1 o de autofecundación una o más veces con la planta de lechuga cultivada de la etapa b) (el progenitor recurrente);
- e) identificar y/o seleccionar la progenie de retrocruzamiento que comprenda un genoma de la planta de lechuga cultivada de la etapa b) (el progenitor recurrente) que comprenda un fragmento de introgresión de la planta de lechuga silvestre de la etapa a) (el progenitor donante) en el cromosoma 6 y/o en el cromosoma 7.
- 45 En un aspecto descrito en el presente documento, la planta de lechuga silvestre de a) es una *L. virosa*. En un aspecto, la *L. virosa* es resistente a Nr: 1 cuando se prueba en un ensayo de resistencia a Nr: 1. En un aspecto, el progenitor de *L. virosa* de a) es NCIMB42086, o su progenie obtenida por autofecundación y/o cruce, donde la progenie comprende QTL6.1, QTL7.1 y/o QTL7.2. En otro aspecto descrito en el presente documento, la planta de a) es una accesión de *L. virosa* que comprende los marcadores específicos de virosa VSP1 y VSP2 o que comprende los marcadores específicos de virosa VSP3 y VSP4 (como se muestra en las tablas 6 y 7).

La lechuga cultivada de la etapa b) en el procedimiento anterior (y en cualquier otro procedimiento de la invención) puede ser cualquier *L. sativa*, como una línea endogámica o una variedad. Puede ser de cualquier tipo, como de hoja o de hoja suelta, butterhead o Bibb, Romaine o Cos, Crisphead o Iceberg, Celuce o Stem lettuce. Es preferiblemente una planta susceptible a Nr: 1, aunque también puede ser una planta que comprenda la resistencia a Nr:1 conferida por diferentes loci, para apilar loci de resistencia a Nr: 1 en una línea o variedad de plantas. Puede ser una planta resistente a Nr:0. Puede comprender el gen *Nrdominante*.

Al referirse al retrocruzamiento y a la progenie retrocruzada, también puede incluirse la progenie obtenida por retrocruzamiento (BC) y autocruzamiento (S), por ejemplo, BC1S1, BC1S2, BC2S1, etc.

En la etapa e) se puede utilizar cualquiera de los marcadores y ensayos de marcadores descritos en el presente documento.

Las plantas obtenidas por el procedimiento se describen en otra parte del presente documento. Estas plantas son, por tanto, plantas cultivadas de *L. sativa* (de cualquier tipo) que comprenden uno o más de los QTL del cromosoma 6 (QTL6.1 o variante) y/o 7 (QTL7.1 y/o QTL7.2 o variantes) en forma homocigota o heterocigota.

Como pueden existir barreras de esterilidad entre *L. sativa* y las plantas de lechuga silvestre, como *L. virosa*, la planta de *L. virosa* (por ejemplo, las plantas cultivadas a partir de semillas que tengan el número de acceso NCIMB 42086 u otras accesiones de *L. virosa*) puede cruzarse con una especie puente, como *L. serriola* (Eenink et al. 1982, Euphytica 31:291-299), y/o se pueden utilizar otros procedimientos, como la tetraploidización, para superar las barreras de esterilidad. Thompson y Ryder (1961; US Department of Agriculture, Tech. Boletín nº 1244), por ejemplo, cruzó *L. virosa* con un híbrido (*L. serriola* x *L. sativa*), que produjo un híbrido interespecífico F1 estéril. Sin embargo, la tetraploidización de la F1 y el posterior cruce y diploidización permitieron introgresar rasgos de *L. virosa* en *L. sativa*. También se puede utilizar el rescate de embriones para recuperar embriones viables de cruces interespecíficos (Maisonneuve et al. 1995, Euphytica 85: 281-285). Así, cuando se hace referencia en cualquier parte de la especificación a una planta de lechuga cultivada (*L. sativa*) que comprende uno o más QTL que confieren resistencia a Nr:1 obtenible mediante el cruce de una planta de *L. virosa* con una planta de lechuga cultivada, esto puede comprender (pero no se limita a) etapas que superen las barreras de esterilidad, como el uso de una especie puente, el rescate de embriones y/o el tratamiento con colchicina (duplicación de cromosomas).

**Procedimiento de cribado de líneas o variedades de lechuga cultivadas para detectar la presencia de uno o más de los QTL seleccionados de QTL6.1 y/o QTL7.1**

Este procedimiento es similar al procedimiento para identificar una planta de lechuga silvestre que comprende uno o más de los QTL, pero en este caso se examinan plantas de lechuga cultivadas, es decir, plantas de *L. sativa*.

El procedimiento comprende, pues, las siguientes etapas:

- a) proporcionar una planta de lechuga cultivada o una pluralidad de plantas de lechuga cultivada;
- b) opcionalmente, analizar la planta de lechuga cultivada o la pluralidad de plantas para determinar la resistencia a Nr:1 en un ensayo de resistencia a Nr: 1 (por ejemplo, de libre elección y/o de no elección);
- c) cribado del ADN genómico de la planta o pluralidad de plantas de a), u opcionalmente sólo de la planta o plantas resistentes a Nr: 1 identificadas en b), para detectar la presencia de uno o más marcadores indicativos de QTL6.1 y/o indicativos de QTL7.1; y
- d) identificar una planta que comprenda uno o más de dichos marcadores de c);
- e) opcionalmente, probar la planta de d) para determinar la resistencia a Nr:1 en un ensayo de resistencia a Nr:1 en el que los marcadores indicativos de QTL6.1 se seleccionan del grupo que consiste en:
  - el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP1.23 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 23;
  - el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_02 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 2;
  - el genotipo TT o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP2.24 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 24;
  - el genotipo AA o AC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_03 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 3;
  - el genotipo GG o GT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido VSP1 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 26;

- el genotipo AA o AC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido VSP3 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 27;

y en el que los marcadores indicativos de QTL7.1 se seleccionan del grupo que consiste en

- el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_17 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 17;
- el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP 17.25 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 25;
- el genotipo GG o GC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_18 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 18;
- el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_19 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 19;
- el genotipo CC o AC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido VSP2 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 28;
- el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido VSP4 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 29.

Utilizando este procedimiento, por ejemplo, se pueden examinar las variedades comerciales competidoras, para determinar si contienen uno o más de los QTL divulgados en el presente documento.

**Procedimiento para transferir uno o más de los QTL seleccionados de QTL6.1, QTL7.1 y/o QTL7.2 (o sus variantes) de una lechuga cultivada (*L. sativa*) a otra lechuga cultivada, por ejemplo, a una línea o variedad de planta de lechuga susceptible a Nr:1**

Los QTL aquí descritos pueden, por supuesto, ser transferidos de una planta cultivada de *L. sativa* a otra planta cultivada de *L. sativa*, para generar diferentes tipos y diferentes variedades de lechuga que sean resistentes a Nr:1.

Este procedimiento comprende las etapas de:

- a) proporcionar una planta de *L. sativa* que comprenda uno o varios o todos los QTL6.1, QTL7.1 y/o QTL7.2 o una variante de cualquiera de ellos;
- b) cruzar la planta *L. sativa* de a) con una segunda planta *L. sativa*;
- c) recoger las semillas F1 de dicho cruce y, opcionalmente, autofecundar dichas plantas F1 una o más veces para producir una población F2 o F3 u otra población autofecundada,
- d) opcionalmente, retrocruzar la planta F1 o una planta F2 o F3 u otra planta de autofecundación con la segunda planta de *L. sativa* de b) para producir una población retrocruzada,
- e) opcionalmente, autofecundar la población retrocruzada una o más veces,
- f) identificar una planta F1, F2, F3, de autofecundación adicional o de retrocruzamiento que comprenda uno o varios o todos los genotipos del marcador SNP indicativos del fragmento de introgresión en el cromosoma 6 (QTL6.1) y/o indicativos del fragmento de introgresión en el cromosoma 7 (QTL7.1 y/o QTL7.2).

Los fragmentos de introgresión que comprenden QTL6.1, QTL7.1 y QTL7.2 (o variantes de cualquiera de ellos) pueden transferirse todos juntos o individualmente a otra planta de lechuga cultivada.

En un aspecto, la segunda planta de lechuga cultivada de b) es una planta de lechuga susceptible a Nr:1, o al menos una planta que carece de los QTL que va a recibir del donante de a).

La nueva planta de lechuga producida puede ser de nuevo cualquier tipo y cualquier línea o variedad. Por lo tanto, los QTL pueden transferirse mediante el cultivo tradicional de una lechuga a otra, por ejemplo, de una lechuga manteca a una romana, de una lechuga de tallo a una Bibb, de una romana a una de hoja suelta, etc. En el curso de la transferencia, el tamaño del fragmento de introgresión puede reducirse por recombinación, y algunos de los marcadores pueden no estar presentes en la planta resultante.

Las plantas producidas por este procedimiento también se describen en este documento.

Así, se describe un procedimiento para generar una planta de lechuga cultivada que comprende la resistencia a Nr:1, que comprende las etapas de:

a) Proporcionar una planta de lechuga cultivada que comprenda 1, 2, 3, 4, 5, o más marcadores SNP indicativos del QTL6.1 (o una variante); y/o 1, 2, 3, 4, 5, o más marcadores SNP indicativos del QTL7.2 (o una variante) y/o 1, 2, 3, 4, 5, o más marcadores SNP indicativos del QTL7.1 (o una variante);

5 b) Cruzar dicha planta de lechuga cultivada con otra planta de lechuga cultivada, que es susceptible contra el pulgón Nr:1 de la lechuga para producir semillas F1;

c) Opcionalmente, autofecundar las plantas cultivadas a partir de semillas F1 una o más veces para producir progenie F2, F3 o autofecundada de otra generación;

10 d) Identificar las plantas de lechuga cultivadas a partir de la progenie de F1, F2, F3 o de una generación posterior que tenga un fenotipo de resistencia a Nr:1 y/o que comprenda el fragmento de introgresión o una parte del fragmento de introgresión que confiera resistencia;

e) Opcionalmente, cruzar dicha progenie F1 identificada o la progenie de autofecundación con la planta de lechuga cultivada de la etapa b), para producir una progenie retrocruzada;

15 f) Opcionalmente, seleccionar la progenie de retrocruzamiento que comprende la resistencia contra el biotipo Nr: 1 y/o que comprenden el fragmento de introgresión o una parte del fragmento de introgresión que confiere resistencia.

En la etapa d) y/o f) pueden utilizarse los marcadores aquí descritos.

También se describe en el presente documento una planta de lechuga producida por el procedimiento.

**Procedimiento de utilización de las semillas depositadas bajo el número de acceso NCIMB42086, o de sus descendientes, para generar lechuga cultivada resistente a Nr: 1**

20 El NCIMB42086 comprende los tres QTL en forma homocigota y, por lo tanto, puede utilizarse para generar líneas o variedades de lechuga cultivada que comprendan uno o más de los QTL, como ya se ha descrito. Asimismo, los descendientes de NCIMB42086 que conserven uno o más de los QTL pueden utilizarse para generar líneas o variedades de lechuga cultivada que incluyan uno o más de los QTL.

**Procedimiento para el cultivo de las plantas divulgadas en el presente documento, es decir, plantas de *L. sativa* resistentes a Nr: 1 que comprenden uno o más de los QTL seleccionados de QTL6.1, QTL7.1 y/o QTL7.2 (o variantes de los mismos), en zonas donde *N. ribisnigri* biotipo Nr: 1 está presente**

25 Las plantas aquí descritas pueden cultivarse en zonas de infestación de Nr: 1 natural. Como los QTL identificados aquí proporcionan resistencia contra *N. ribisnigri* biotipo Nr: 1 no sólo en condiciones de libre elección, sino también como en condiciones de no elección, la resistencia es muy eficaz en el campo, ya que se puede esperar un buen rendimiento incluso en situaciones en las que los insectos no tienen otra opción para alimentarse y reproducirse. La resistencia que está presente sólo en condiciones de libre elección es arriesgada, ya que los áfidos pueden seguir eligiendo las plantas para alimentarse y reproducirse en situaciones en las que no hay otra opción preferida.

30 Además, se demostró que los QTL aquí descritos proporcionan resistencia contra diferentes aislados del biotipo Nr:1, originarios de diferentes países, como Alemania, Francia y España. Por lo tanto, se espera que la resistencia sea efectiva y duradera en Alemania, Francia, España, Reino Unido y otros países europeos, así como en otros países del mundo donde el biotipo Nr: 1 puede ser encontrado.

35 En un aspecto, los QTL aquí descritos también proporcionan resistencia contra el biotipo Nr:0, al menos contra los biotipos europeos Nr:0 (es decir, al menos contra los biotipos alemán, francés y español Nr: 1). Así, en un aspecto, las plantas de lechuga cultivadas descritas en el presente documento (que comprenden uno o más de los QTL) son resistentes contra Nr: 1 y al menos también contra los biotipos europeos de Nr:0. En un aspecto, las plantas son susceptibles contra los biotipos estadounidenses o californianos de Nr:0, aunque esto aún no se ha probado.

40 La resistencia de campo de las plantas descritas en el presente documento (que comprenden uno o más de los QTL) contra el biotipo Nr:1, es significativamente mayor (es decir, medible por un número medio de áfidos significativamente menor) que para los controles susceptibles, como Mafalda. Esto puede comprobarse, por ejemplo, en pruebas a campo abierto en zonas de infestación de Nr: 1 (por ejemplo, en Murcia, España) sembrando o plantando en el campo plantas de lechuga de la línea o variedad que comprende uno o más de los fragmentos de introgresión en su genoma, junto con controles adecuados, como la variedad susceptible Mafalda y/o una línea de control genético. Preferiblemente se incluyen al menos unas 10, 15, 20 o más plantas por línea o variedad, así como al menos dos o preferiblemente tres réplicas. Las plantas se pueden supervisar semanalmente y, una vez que se observe una infestación suficiente en el control susceptible (por ejemplo, al menos 100 o más áfidos), se puede contar el número de áfidos de la lechuga en un número representativo de plantas de cada línea o variedad. Preferiblemente, en condiciones de campo, el número medio de pulgones del biotipo Nr: 1 es significativamente menor en las plantas aquí divulgadas en comparación con los controles susceptibles, como Mafalda. Es preferible no determinar el número medio de pulgones en las plántulas jóvenes (por debajo del estadio de 3-4 hojas verdaderas),

ya que en los ejemplos se ha comprobado que en estas plantas jóvenes la resistencia no se expresa aún plenamente.

Aunque las plantas de NCIMB42086 (que comprenden los tres QTL en forma homocigota) resultaron estar completamente libres de Nr: 1 en pruebas de campo de libre elección y no elección realizadas en España, puede ser

5 (sin estar limitado por la especulación) que una planta de lechuga cultivada que comprenda sólo uno o dos de los QTL (o variantes), o no las tres introgresiones que comprenden los QTL (o variantes) en forma homocigota, no sea completamente resistente contra Nr:1. Por lo tanto, en un aspecto, las plantas de lechuga cultivadas divulgadas en el presente documento, que comprenden uno o más de los QTL (QTL6.1, QTL7.1 y/o QTL7.2 o variantes de cualquiera de ellos) en forma homocigota o heterocigota, comprenden un número medio de pulgones del biotipo Nr: 1 es igual o inferior al 50%, 49%, 48%, 47%, 46%, 45%, 44%, 43% 40%, 30%, 20%, 10%, 5%, 3%, 2% o 1%, del número medio de pulgones encontrados en la variedad Mafalda (o en un número diferente: 1 variedad susceptible, preferentemente que comprende el gen *Nr* ), o en el control genético, cuando se cultivan en las mismas condiciones. Por ejemplo, se puede realizar un ensayo de libre elección o de no elección en el campo, como se describe en los Ejemplos, para determinar el número medio de pulgones Nr: 1 en las plantas aquí divulgadas y en las plantas de control.

10 15 En un aspecto descrito en el presente documento, las plantas de lechuga cultivadas divulgadas en el presente documento comprenden igual o menos de un promedio de 50 *N. ribisnigri* biotipo pulgones Nr: 1, o igual o inferior a una media de 40, 30, 20 o 10 pulgones Nr: 1. En otro aspecto, las plantas de lechuga cultivadas aquí descritas comprenden (en promedio) cero Nr: 1 pulgones o esencialmente cero Nr: 1 (igual o inferior a 5 pulgones de media) cuando se cultiva en el campo, mientras que la planta de control, como Mafalda, comprende un número significativo de biotipos de pulgón Nr: 1. Un número significativo es al menos 100 pulgones de media, 150, 200, 250 o más.

20 25 En otro aspecto, las plantas de lechuga cultivadas descritas en el presente documento comprenden un promedio igual o inferior a 50 áfidos *N. ribisnigri* (de cualquier biotipo, es decir, el biotipo Nr:0 y el biotipo Nr: 1), o igual o inferior a una media de 40, 30, 20 o 10 pulgones de *N. ribisnigri* . En otro aspecto, las plantas de lechuga cultivadas que se dan a conocer en el presente documento comprenden (en promedio) cero áfidos *N. ribisnigri* o esencialmente cero áfidos (igual o menos de 5 áfidos en promedio) cuando se cultivan en el campo en una zona en la que tanto Nr: 1 y Nr:0 están presentes, mientras que la planta de control, como Mafalda, comprende un número significativo de biotipos Nr: 1 y mientras que una variedad susceptible a Nr:0 comprende un número significativo de biotipos Nr:0. Un número significativo es al menos 100 pulgones de media, 150, 200, 250 o más.

30 35 Las plantas de lechuga cultivadas aquí descritas pueden ser de cualquier tipo. Pueden ser lechugas verdes o rojas, lechugas verdes y rojas (por ejemplo manchada), lechuga babyleaf, lechuga tipo little-gem, lechuga de hoja suelta (también denominada lechuga de corte o de manojo), lechuga butterhead, lechuga Bibb, lechuga Batavia (o Summercrisp), lechuga de cabeza, lechuga romana (o cos) lechuga crisphead (o iceberg), lechuga multileaf, lechuga del grupo Great Lakes, lechuga del grupo Vanguard, lechuga del grupo Salinas, lechuga del grupo Eastern (Ithaca), lechuga de tallo o latina, etc. También pueden ser de tipo intercalado, por ejemplo, una cos con características de iceberg, o una iceberg con características de cos, etc. Pueden ser líneas endogámicas, híbridos F1, dobles haploides, plantas transgénicas, plantas mutantes, etc.

40 En un aspecto descrito en el presente documento, el fragmento o fragmentos de introgresión que comprenden uno o más de los QTL 6.1, 7.1 y/o 7.2 (o variantes) están en forma homocigota en la planta de lechuga cultivada descrita aquí. La autofecundación una o más veces asegurará que los fragmentos de introgresión estén en forma homocigota y el marcador o marcadores SNP también mostrarán el genotipo homocigota.

45 En otro aspecto, la planta de lechuga cultivada descrita en el presente documento tiene una buena fertilidad y es fácilmente cruzable con otras líneas o variedades de lechuga cultivada. Preferiblemente, se eliminan los fragmentos del genoma silvestre (por ejemplo, *L. virosa*) que se cointroducen con los QTL y que confieren cualquier característica negativa en la planta cultivada, como baja fertilidad y/o crecimiento enano. Esto puede hacerse seleccionando recombinantes que tengan un fragmento de introgresión más corto, pero que conserven la parte que confiere la resistencia a Nr:1.

50 Las plantas descritas en el presente documento pueden utilizarse para generar progenie (o descendencia) que tenga o conserve el/los QTL (o las variantes) y el fenotipo de resistencia a Nr: 1. Para generar progenie, una lechuga cultivada divulgada en el presente documento puede autofecundarse y/o cruzarse una o más veces con otra planta de lechuga y pueden recogerse las semillas.

También se describen en el presente documento las semillas a partir de las cuales se puede cultivar cualquiera de las plantas aquí divulgadas.

55 En una realización, el uso de una planta de lechuga, de la cual se han depositado semillas representativas bajo el número de acceso NCIMB 42086, o su progenie (por ejemplo, obtenida por autofecundación), para generar un Nr: Se describe una planta de lechuga cultivada resistente.

En otra realización, el uso de la planta de lechuga cultivada que comprende un fenotipo de resistencia a Nr: 1 conferido por uno o varios QTL encontrados en / obtenibles a partir de semillas depositadas con el número de

acceso NCIMB 42086, o de su progenie (por ejemplo, obtenida por autofecundación), para generar un Nr: Se describe una planta de lechuga cultivada resistente.

Semillas

También se divultan las semillas a partir de las cuales se puede cultivar cualquiera de las plantas descritas en el presente documento, así como los envases o paquetes que contienen o comprenden dichas semillas. Las semillas pueden distinguirse de otras semillas debido a la presencia de uno o más QTL (como puede comprobarse mediante las pruebas de marcadores moleculares descritas en el presente documento) y fenotípicamente.

En un aspecto, las semillas se envasan en contenedores pequeños y/o grandes (por ejemplo, bolsas, cartones, latas, etc.). Las semillas pueden ser granuladas antes de su envasado (para formar píldoras o gránulos) y/o tratadas con diversos compuestos, como recubrimientos de semillas.

El granulado de semillas puede combinarse con el recubrimiento de películas (Halmer, P. 2000. Tecnología de tratamiento de semillas comercial. En: La tecnología de las semillas y su base biológica. Eds: Black, M. y Bewley, J. D., páginas 257-286). El granulado crea formas redondas o redondeadas, que se pueden sembrar fácilmente con las modernas máquinas de siembra. Una mezcla de pellets suele contener semillas y al menos cola y material de relleno. Esta última puede ser, por ejemplo, arcilla, mica, tiza o celulosa. Además, pueden incluirse ciertos aditivos para mejorar propiedades particulares del pellet, por ejemplo, una formulación de tratamiento de semillas que comprenda al menos un compuesto insecticida, acaricida, nematicida o fungicida puede añadirse directamente a la mezcla de pellets o en capas separadas. Una formulación de tratamiento de semillas puede incluir uno de estos tipos de compuestos solamente, una mezcla de dos o más del mismo tipo de compuestos o una mezcla de uno o más del mismo tipo de compuestos con al menos otro insecticida, acaricida, nematicida o fungicida.

Las formulaciones especialmente adecuadas para la aplicación como tratamiento de semillas pueden añadirse a la semilla en forma de recubrimiento de película, incluyendo también la posibilidad de utilizar el recubrimiento en o sobre un pellet, así como incluir la formulación de tratamiento de semillas directamente en la mezcla del pellet. Característicamente, un recubrimiento de película es una película uniforme, libre de polvo y permeable al agua, que cubre uniformemente la superficie de todas las semillas individuales (Halmer, P. 2000. Tecnología de tratamiento de semillas comercial. En: La tecnología de las semillas y su base biológica. Eds: Black, M. y Bewley, J. D., páginas 257-286). Además de la formulación, la mezcla de recubrimiento suele contener otros ingredientes como agua, cola (normalmente un polímero), materiales de relleno, pigmentos y determinados aditivos para mejorar determinadas propiedades del recubrimiento. Se pueden combinar varios revestimientos en una sola semilla.

Además, son posibles varias combinaciones con el recubrimiento de la película: el recubrimiento de la película puede añadirse en el exterior del pellet, entre dos capas de material de peletización, y directamente en la semilla antes de añadir el material de peletización. También se puede incorporar más de una capa de recubrimiento de película en un solo pellet. Un tipo especial de granulación es la incrustación. Esta técnica utiliza menos material de relleno y el resultado es un "minipellet".

Las semillas también pueden ser cebadas. De todas las semillas de hortalizas que se plantan comercialmente, la lechuga es la que más se ceba. El cebado es un proceso a base de agua que se realiza en las semillas para aumentar la uniformidad de la germinación y la emergencia del suelo, y así mejorar el establecimiento del rodal vegetal. El cebado disminuye el lapso de tiempo entre la emergencia de la primera y la última plántula. Los procedimientos para ceder las semillas de lechuga son bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo Hill et al HortScience 42(6): 1436, 2007).

Partes de la planta y reproducciones vegetativas

En otro aspecto se describen en el presente documento partes de plantas, obtenidas de (obtenibles de) una planta, y envases o embalajes que comprenden dichas partes de plantas. Cualquier parte de la planta puede distinguirse de otras partes de la planta de lechuga por la presencia de un cromosoma recombinante 6 y/o 7, es decir, por la presencia de un fragmento de introgresión de una lechuga silvestre, por ejemplo de *L. virosa*, en el cromosoma 6 y/o 7. Esto puede comprobarse fácilmente mediante la presencia de uno o varios o todos los marcadores descritos en el presente documento.

En un aspecto preferido descrito en el presente documento, las partes de la planta son hojas o cabezas de plantas de lechuga cultivadas divulgadas en el presente documento, preferiblemente hojas o cabezas cosechadas, o partes de éstas.

Otras partes de la planta, de las plantas aquí divulgadas, incluyen tallos, esquejes, pecíolos, cotiledones, flores, anteras, polen, ovarios, raíces, puntas de raíces, protoplastos, callos, microsporas, tallos, óvulos, brotes, semillas, embriones, sacos embrionarios, células, meristemas, yemas, etc. Las semillas incluyen, por ejemplo, las semillas producidas en la planta aquí divulgada después de la autopollinación o después de la polinización con polen de otra planta de lechuga.

En otro aspecto descrito en el presente documento, la parte de la planta es una célula vegetal o un tejido vegetal. En otro aspecto, la parte de la planta es una célula no regenerable o una célula regenerable. En otro aspecto, la célula vegetal es una célula somática. En otro aspecto, la célula vegetal es una célula reproductora, como un óvulo o un polen. Estas células son haploides. Cuando se regeneran en plantas enteras, constituyen el genoma haploide de la planta inicial. Si se produce la duplicación de los cromosomas (por ejemplo, mediante un tratamiento químico), se puede regenerar una planta doblemente haploide. En un aspecto, la planta aquí descrita es una planta de lechuga haploide o doblemente haploide.

Además, se divulga un cultivo celular o de tejidos *in vitro* de las plantas de lechuga descritas en el presente documento, en el que el cultivo celular o de tejidos se deriva de una parte de la planta descrita anteriormente, como, por ejemplo y sin limitación, hojas, polen, embriones, cotiledones, hipocótilos, células meristemáticas, raíces, puntas de raíces, anteras, flores, semillas o tallos, células somáticas, células reproductoras. Por ejemplo, en el cultivo de tejidos se pueden utilizar recortes de hojas, hipocótilos o tallos.

En un aspecto específico, se describe en el presente documento un cultivo celular o de tejidos *in vitro* de plantas de lechuga en el que el cultivo celular o de tejidos se deriva de una parte de la planta descrita anteriormente, en la que dicha parte de la planta no comprende células reproductoras. En otra realización, el cultivo celular o de tejidos no comprende células regenerables. En un aspecto se describen células no propagadoras y un cultivo celular o de tejidos que comprende o consiste en células no propagadoras.

También se describen plantas de lechuga regeneradas a partir de las partes de la planta descritas anteriormente, o regeneradas a partir de los cultivos de células o tejidos descritos anteriormente, dicha planta regenerada tiene resistencia a Nr: 1, es decir, conserva el fragmento o fragmentos de introgresión que confieren la resistencia a Nr: 1. Estas plantas también pueden denominarse propagaciones vegetativas de las plantas aquí divulgadas.

También se describen en el presente documento las hojas y/o cabezas de plantas cosechadas divulgadas en el presente documento y los paquetes que comprenden una pluralidad de hojas y/o cabezas de plantas divulgadas en el presente documento, tales como 1, 2, 3, 4, 5, 10, 12, 20 cabezas.

La divulgación también describe un producto alimenticio o de alimentación animal que comprende o consiste en una parte de la planta descrita en el presente documento. El producto alimenticio o de alimentación puede ser fresco o procesado, por ejemplo, enlatado, al vapor, hervido, frito, escaldado y/o congelado, etc. Ejemplos de ello son las ensaladas o mezclas de ensaladas que comprenden hojas o partes de hojas de las plantas divulgadas en el presente documento.

Una planta de lechuga descrita en el presente documento o una progenie de la misma que conserve el fenotipo de resistencia a Nr: 1 y el fragmento o fragmentos de introgresión, así como partes de las plantas mencionadas, pueden embalarse adecuadamente para, por ejemplo, su transporte, y/o venderse frescas. Dichas partes abarcan cualquier célula, tejido y órgano que se pueda obtener de las plántulas o plantas, como, por ejemplo, cabezas, esquejes, polen, hojas, partes de hojas y similares. Las cabezas y las hojas pueden cosecharse como hojas tiernas o más tarde. Una planta, las plantas o partes de ellas pueden estar envasadas en un contenedor (por ejemplo, bolsas, cajas de cartón, latas, etc.) solas o junto con otras plantas o materiales. Las piezas pueden ser almacenadas y/o procesadas posteriormente. Por lo tanto, se describen también productos alimenticios o piensos que comprenden una o más de dichas partes, dichas hojas o partes de las mismas obtenidas de una planta divulgada en el presente documento, una progenie de la misma y partes de las plantas antes mencionadas. Por ejemplo, también se describen en el presente documento envases como latas, cajas, cajones, bolsas, cartones, envases de atmósfera modificada, películas (por ejemplo, películas biodegradables), etc. que contienen partes de plantas (frescas y/o procesadas).

#### Plantas y Progenie (descendientes)

En otro aspecto, se divultan plantas y partes de plantas de lechuga descritas en el presente documento, y la progenie de plantas de lechuga, por ejemplo, cultivadas a partir de semillas, producidas por reproducción sexual o vegetativa, regeneradas a partir de las partes de plantas descritas anteriormente, o regeneradas a partir de cultivos de células o tejidos, en las que la planta reproducida (propagada por semillas o propagada vegetativamente) comprende el fenotipo de resistencia a Nr: 1 (y, por tanto, el fragmento o fragmentos de introgresión que confieren resistencia a Nr:1).

Como se ha mencionado anteriormente, tanto si una planta, una progenie o una propagación vegetativa comprende el fenotipo de resistencia a Nr: 1 puede probarse fenotípicamente utilizando, por ejemplo, la prueba de elección y/o la prueba de no elección, ya sea en pruebas de campo o en pruebas de ambiente controlado, como se ha descrito anteriormente o en los Ejemplos, y/o utilizando técnicas moleculares como el análisis de marcadores moleculares (utilizando uno o más o todos los marcadores descritos en el presente documento), la secuenciación del ADN (por ejemplo, la secuenciación del genoma completo para identificar la introgresión de *L. virosa*), el pintado de cromosomas, etc.

- En un aspecto se describe que el QTL(s) de resistencia a Nr: 1 que se puede obtener de (obtenido(s)) de NCIMB42086 o de otras lechugas silvestres (por ejemplo, otras accesiones de *L. virosa* resistentes a Nr: 1) pueden combinarse con otros genes, como otros genes resistentes a Nr: 1 (por ejemplo, genes individuales o QTL en diferentes cromosomas), con genes de resistencia a Nr:0 (por ejemplo, el gen *Nr*) o con otros rasgos, como la resistencia al mildiú veloso, a la podredumbre *por Sclerotinia*, a la *Botrytis*, al oídio, a la antracnosis, a la podredumbre del fondo, a la podredumbre corchosa de la raíz, al virus del mosaico de la lechuga, a la vena grande, al pulgón de la lechuga, al amarillo occidental de la remolacha y al amarillo del áster. La resistencia contra una o más de las siguientes plagas también puede estar presente o ser introducida en las plantas aquí divulgadas: Resistencia a *Sclerotinia minor* (caída de la hoja), *Sclerotinia sclerotiorum* (caída de la hoja), *Rhizoctonia solani* (caída del fondo), *Erysiphe cichoracearum* (oídio), *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* (marchitez por *Fusarium*). También pueden introducirse otros genes de resistencia, contra virus patógenos (por ejemplo, el virus del amarillamiento infeccioso de la lechuga (LYV), el virus del mosaico de la lechuga (LMV), el virus del mosaico del pepino (CMV), el virus del amarillamiento occidental de la remolacha (BWYV), el virus del mosaico de la alfalfa (AMV)), hongos, bacterias o plagas de la lechuga.
- Además, la divulgación describe la progenie (o descendencia) que comprende o retiene el/los QTL que confieren resistencia a Nr:1 divulgados en el presente documento, como la progenie obtenida, por ejemplo, por autofecundación una o más veces y/o por polinización cruzada de una planta descrita en el presente documento con otra planta de lechuga de una variedad o línea de mejora diferente, o con una planta de lechuga descrita en el presente documento una o más veces. En particular, la divulgación describe la progenie que conserva el QTL6.1, el QTL7.1 y/o el QTL7.2, tal como se encuentra en el NCIMB 42086. En un aspecto, la divulgación describe una planta progenitora que comprende la resistencia a Nr:1, como una planta progenitora que se produce a partir de una planta de lechuga cultivada divulgada en el presente documento que comprende la resistencia a Nr:1 mediante uno o más procedimientos seleccionados del grupo que consiste en: autofecundación, cruce, mutación, producción de dobles haploides o transformación.
- Las mutaciones pueden ser mutaciones espontáneas o mutaciones inducidas por el hombre o mutaciones somacloniales. Véase, por ejemplo Mou 2011, Mutaciones en la mejora de la lechuga, International Journal of Plant Genomics Volumen 2011, Artículo ID 723518.
- En un aspecto, las plantas o semillas aquí descritas también pueden ser mutadas (por ejemplo, mediante irradiación, mutagénesis química, tratamiento térmico, TILLING, etc.) y/o las semillas o plantas mutadas pueden ser seleccionadas (por ejemplo, variantes naturales, variantes somacloniales, etc.) para cambiar una o más características de las plantas. Del mismo modo, las plantas aquí divulgadas pueden ser transformadas y regeneradas, introduciendo uno o más genes químéricos en las plantas. La transformación puede llevarse a cabo mediante procedimientos estándar, como la transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens* o la biolística, seguida de la selección de las células transformadas y la regeneración en plantas. Un rasgo deseado (por ejemplo, genes que confieren resistencia a plagas o enfermedades, tolerancia a herbicidas, fungicidas o insecticidas, etc.) puede introducirse en las plantas, o en su progenie, mediante la transformación de una planta divulgada en el presente documento o de su progenie con un transgén que confiere el rasgo deseado, en el que la planta transformada conserva la(s) introgresión(es) que confiere la resistencia a Nr:1 y contiene el rasgo deseado.
- Los QTL que confieren la resistencia a Nr:1 pueden ser transferidos a la progenie por medio de la cría posterior, especialmente a otras plantas de lechuga cultivadas. En un aspecto, la progenie es la progenie<sub>F1</sub> obtenida por el cruce de una planta de lechuga cultivada divulgada en el presente documento con otra planta o la progenie S1 obtenida por autofecundación de una planta divulgada en el presente documento. También se incluye la progenie F2 obtenida por autofecundación de las plantas<sub>F1</sub>, F3, F4 o descendientes adicionales obtenidos por autofecundación y/o retrocruzamiento, que conservan el o los QTL. La "reproducción adicional" abarca las técnicas tradicionales de reproducción (por ejemplo, autofecundación, cruce, retrocruzamiento), la reproducción asistida por marcadores y/o la reproducción por mutación. En un aspecto descrito en el presente documento, la progenie comprende el QTL6.1, el QTL7.1 y/o el QTL7.2 tal como están presentes en el NCIMB 42086.
- En un aspecto se describen en el presente documento plantas haploides y/o plantas dobles haploides de planta. Las plantas haploides y doblemente haploides (DH) pueden producirse, por ejemplo, mediante el cultivo de anteras o microsporas y la regeneración en una planta completa. Para la producción de DH se puede inducir la duplicación de cromosomas mediante procedimientos conocidos, como el tratamiento con colchicina o similares. Así, en un aspecto se describe una planta de lechuga cultivada, que comprende uno o más QTL que confieren resistencia a Nr: 1 según se describe, siendo la planta un doble haploide.
- Otro aspecto descrito en el presente documento se refiere a un procedimiento para producir semillas de lechuga, que comprende el cruce de una planta de lechuga cultivada divulgada en el presente documento con ella misma o con una planta de lechuga diferente y la cosecha de la semilla resultante. En otro aspecto, se describen en el presente documento las semillas producidas según este procedimiento y/o una planta de lechuga producida por el cultivo de dichas semillas.

Así, en un aspecto se describe la progenie de una planta de lechuga cultivada, en la que la planta progenitora se produce por autofecundación, cruce, mutación, producción de doble haploide o transformación y en la que la progenie conserva la resistencia a Nr:1 descrita en este documento

5 La invención proporciona un procedimiento para determinar el genotipo de una planta descrito en el presente documento que comprende la detección en el genoma de la planta de al menos un primer polimorfismo (por ejemplo, uno o más de los marcadores descritos en el presente documento). El procedimiento puede, en ciertas realizaciones, comprender la detección de una pluralidad de polimorfismos en el genoma de la planta (por ejemplo, dos o más de los marcadores descritos en el presente documento, indicativos de QTL6.1 y/o QTL7.1. Por ejemplo, se obtiene una muestra de ácido nucleico de una planta y se detecta un polimorfismo o una pluralidad de polimorfismos en dichos ácidos nucleicos. El procedimiento puede comprender además el almacenamiento de los resultados de la etapa de detección de la pluralidad de polimorfismos en un medio legible por ordenador.

10 Aparte de los marcadores SNP proporcionados en el presente documento, el experto puede desarrollar también más marcadores moleculares, por ejemplo, entre cualquiera de los marcadores proporcionados en el presente documento, u otros nuevos marcadores, por ejemplo, marcadores vinculados a variantes de QTL6.1, QTL7.1 y/o QTL7.2. El experto sabe cómo desarrollar marcadores moleculares. Por ejemplo, esto puede hacerse cruzando una planta de lechuga resistente a Nr:1 divulgada en el presente documento (ya sea una lechuga cultivada o una lechuga silvestre, como NCIMB42086) con una planta de lechuga susceptible a Nr:1 y desarrollando una población segregante (por ejemplo, F2 o población retrocruzada) a partir de ese cruce. La población segregante puede entonces ser fenotipada para resistencia a Nr: 1 y genotipado utilizando, por ejemplo, marcadores moleculares como SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms), AFLPs (Amplified Fragment Length Polymorphisms; véase, por ejemplo EP 534 858), u otros, y mediante el análisis de software los marcadores moleculares que se co-segregan con el fenotipo de resistencia a Nr: 1 en la población segregante puede ser identificado.

#### Información sobre el depósito

25 Los QTL fueron identificados en, y derivados de, la progenie de una muestra de una accesión silvestre de *L. virosa*, PI273597 (fuente US NGRP; National Genetic Resource Program, [www.ars-grin.gov](http://www.ars-grin.gov)), originaria de Alemania (Baden Württemberg). Se cultivó y multiplicó una planta resistente a Nr:1 identificada en los ejemplos siguientes, y una muestra representativa de semillas fue depositada por Nunhems B.V. el 5 de diciembre de 2012 con el número de acceso NCIMB 42086. Así, un total de 2500 semillas de *L. virosa* NCIMB 42086 fueron depositadas por Nunhems B.V. el 5 de diciembre de 2012, en el NCIMB Ltd., Ferguson Building, Craibstone Estate, Bucksburn, Aberdeen AB21 9YA, Reino Unido (NCIMB). El acceso al depósito estará disponible durante la pendencia de esta solicitud para las personas que el Director de la Oficina de Patentes de los Estados Unidos determine que tienen derecho a ello, previa solicitud. Sin perjuicio de lo dispuesto en el 37 C.F.R. § 1.808(b), todas las restricciones impuestas por el depositante sobre la disponibilidad al público del material depositado serán eliminadas irrevocablemente tras la concesión de la patente. El depósito se mantendrá durante un periodo de 30 años, o 5 años después de la última solicitud o durante la vida ejecutiva de la patente, lo que sea más largo, y se sustituirá si alguna vez se vuelve inviable durante ese periodo. El solicitante no renuncia a ningún derecho concedido en virtud de esta patente en esta solicitud o en virtud de la Ley de Protección de las Obtenciones Vegetales (7 USC 2321 et seq.).

40 Diversas modificaciones y variaciones de los productos y procedimientos descritos de la invención serán evidentes para los expertos en la materia sin apartarse del alcance y el espíritu de la invención. Aunque la invención se ha descrito en relación con realizaciones preferidas específicas, debe entenderse que la invención reivindicada no debe limitarse indebidamente a dichas realizaciones específicas. De hecho, diversas modificaciones de los modos descritos para llevar a cabo la invención que son obvias para los expertos en fitomejoramiento, química, biología, fitopatología o campos afines están previstas dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

45 La presente invención se ilustrará con más detalle en los siguientes Ejemplos, que se dan sólo con fines ilustrativos y no pretenden limitar la invención de ninguna manera.

#### Ejemplos

##### Ejemplo 1 - resistencia a Nr:1 en la prueba de elección libre

###### 1.1 Material vegetal

50 Las semillas se sembraron en bandejas de plástico (macetas de 4x7). Las bandejas de plástico se llenaron con una mezcla de tierra compuesta por dos fuentes diferentes de turba. Una vez sembradas, las bandejas se colocan en cajas de plástico. A continuación, estas cajas se colocaron en los estantes de las celdas climáticas (ciclo de 16/8 horas día/noche con tubos de luz fluorescente; la intensidad de la luz era de aproximadamente 50  $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$  PAR (radiación fotosintéticamente activa); la temperatura para los periodos día/noche era de 20/16 °C; la humedad relativa se fijó en un 80% constante). Durante la siembra, se colocaron de una a dos semillas en cada maceta. Aproximadamente una semana después de la germinación, las plántulas germinadas se ralearon según fuera necesario, es decir, sólo se mantuvo una plántula por maceta. Las plantas se mantuvieron en las celdas climáticas

(las condiciones ambientales descritas anteriormente se mantienen durante todo el ensayo) hasta el final del experimento. Se ha regado cuando ha sido necesario.

### **1.2 Material vegetal multiplicador**

Las plantas multiplicadoras son las plantas utilizadas para producir la población de áfidos necesaria para la prueba.

- 5 Las plantas multiplicadoras se sembraron en la semana 1. Las semillas se germinaron y las plantas se mantuvieron de la misma manera que el material vegetal analizado. Como planta multiplicadora se utilizó la variedad de cabeza de mantequilla de campo abierto Mafalda (Nunhems / BayerCropScience Vegetable Seeds), pero también podrían utilizarse otras plantas resistentes a Nr:0.

### **1.3 Diseño del ensayo**

- 10 La célula climática podía alojar hasta seis unidades móviles de estantería (MSU). Cada unidad estaba compuesta por tres estantes/placas. En una sola estantería pueden almacenarse un máximo de tres cajas de plástico, cada una de las cuales contiene hasta 28 plantas.

15 La accesión silvestre NCIMB42086, junto con otras 13 accesiones silvestres, fueron comparadas por sus niveles de resistencia contra el biotipo Nr:1. En la célula climática se utilizaron 36 cajas. Cada caja contenía dos plantas de cada línea/accesión de plantas (las posiciones de las plantas en cada caja fueron aleatorias). A continuación, se colocaron las 36 cajas en las dos mesetas inferiores de las seis MSU. No se incluyeron candidatos susceptibles conocidos.

### **1.4 Insectos**

- 20 Un Nr: Un aislado de pulgón procedía originalmente de un campo de lechugas en la zona de Pfalz, en Alemania. El otro pulgón de Nr: 1 aislado procedía originalmente de un campo de lechugas cerca de Perpignan, Francia.

Cuando el pulgón no era necesario para el ensayo, se mantenía una pequeña colonia de insectos en plantas "mantenedoras" de Mafalda (5 a 10 plantas individuales) en la celda climática. Las plantas se guardaron en una sola caja.

### **1.5 Producción de inóculo**

- 25 La cría de la población de áfidos utilizada para un ensayo (es decir, el "inóculo") se inició en la semana 4 de la planificación. La cría se inició dejando caer ninfas y adultos (sin alas) de pulgones en la parte superior de plantas de Mafalda de 3 semanas. Se utilizaron aproximadamente 500 pulgones en una caja que contenía 28 plantas. Las plantas y los pulgones se almacenaron en cajas y se mantuvieron abiertos en estantes en la celda climática con las condiciones ambientales descritas anteriormente. Una vez inoculada, se dejó que la población de pulgones se desarrollara en las plantas multiplicadoras durante tres semanas, es decir, hasta que se necesitara para la inoculación del ensayo.

### **1.6 Inoculación de prueba**

Las plantas probadas fueron inoculadas en la semana 7, es decir, cuando las plantas tenían 3 semanas de edad.

- 35 Se transfirieron exactamente 20 pulgones en la parte superior de cada planta probada. Para ello, se utilizó un pincel para recoger los insectos de las plantas multiplicadoras y depositarlos en el corazón de las plantas analizadas. Sólo se utilizaron ninfas y adultos indeterminados. No se incluyeron los pulgones visiblemente alados.

### **1.7 Planificación del juicio**

Semana	Eventos
1	Siembra de plantas multiplicadoras
4	(i) Infestación de plantas multiplicadoras con adultos sin alas
	(ii) Siembra del material vegetal analizado
5	Adelgazamiento
7	Inoculación de plantas probadas
8	Puntuación del ensayo a la semana de la inoculación

Semana	Eventos
9	Puntuación del ensayo a las 2 spi (semana después de la inoculación)
10	Puntuación del ensayo a las 3 spi (semana después de la inoculación)
11	Puntuación del ensayo a las 4 spi (semana después de la inoculación)
12	Puntuación del ensayo a las 5 spi (semana después de la inoculación)

### **1.8 Recogida y análisis de resultados**

Se contó el número de áfidos presentes en cada una de las plantas. El recuento se realizó semanalmente durante un periodo de 5 semanas tras la inoculación (véase la planificación del ensayo más arriba).

5 **1.9 Resultados de la prueba de elección libre**

Los resultados de la prueba de elección (libre) se muestran en las figuras 2A y 2B. Los resultados muestran que tanto con el Nr. alemán (Fig. 2A) como con el francés (Fig. 2B): 1 las plantas aisladas de NCIMB 42086 tenían muy pocos pulgones y, por lo tanto, un mayor nivel de resistencia a Nr:1. El número medio de pulgones en el NCIMB 42086 aumentó inicialmente, pero sólo hasta un número medio de 22 (aislado alemán) y 22,5 (aislado francés). Tras el aumento inicial del número de áfidos, éste disminuyó de forma constante hasta alcanzar una media de 1,95 (aislado alemán) y 2,79 (aislado francés) tras 5 semanas en el NCIMB 42086.

Así, en las plantas jóvenes de unas 8 semanas de edad prácticamente no hay Nr: Se encontraron 1 áfido en NCIMB42086 en condiciones de libre elección.

**Ejemplo 2 -resistencia a Nr:1 en una prueba no selectiva**

15 **2.1 Descripción del protocolo de prueba no selectiva de Nr:1**

El protocolo utilizado durante las pruebas de no elección fue casi idéntico al de la prueba de elección del Ejemplo 1. Sin embargo, había diferencias en la configuración del material vegetal probado, en la célula climática y en el diseño del propio ensayo.

20 A diferencia de la prueba de elección, en la prueba de no elección las cajas estaban contenidas individualmente en tiendas de plástico.

Además, se utilizó un solo genotipo de planta (líneas/accesiones individuales) en cada unidad de caja/jaula: en otras palabras, ninguna caja contenía combinaciones de líneas de plantas probadas.

Los niveles de resistencia presentes en el NCIMB 42086 y otras tres accesiones fueron comparados en una prueba de no elección. La variedad Mafalda se utilizó como control negativo.

25 Para cada línea de plantas se utilizaron cuatro jaulas. En las jaulas se colocó una caja con 18 plantas de una misma línea. A continuación, las jaulas se colocaron en una celda climática de forma semialeatoria. Se utilizaron un total de 20 jaulas y 360 plantas (72 plantas por línea o accesión).

La inoculación del pulgón y la recogida de resultados se realizaron como se describe en el Ejemplo 1, excepto que sólo el Nr: Se analizó un aislado.

30 **2.2 Resultados de la prueba de no elección**

Los resultados de la prueba de no elección se muestran en la Figura 1A y la Figura 1B, que muestra una escala mayor.

35 Como puede verse, NCIMB 42086 tiene resistencia contra el biotipo Nr:1, es decir, el número medio de pulgones es significativamente menor que en la variedad de control susceptible Mafalda. Al principio, el número medio de pulgones aumentó ligeramente, pero no hasta superar los 30 (en el NCIMB 42086 era de 28 después de dos semanas), tras lo cual disminuyó continuamente hasta llegar a cero.

Así, en plantas jóvenes de unas 8 semanas de edad no se encontraron áfidos Nr:1 en NCIMB 42086 en condiciones de no elección.

**Ejemplo 2 - Pruebas de campo de plantas semiadultas y adultas (elección libre y no elección)**

## **2.1 Prueba de campo de libre elección**

### **2.1.1 Crecimiento de la planta**

Para cada ensayo, las semillas se sembraron en "tapones" individuales de mezcla de compost y turba y se germinaron en invernaderos sin calefacción. Aproximadamente entre 7 y 9 semanas después de la siembra, las plántulas germinadas se trasplantaron a camas elevadas en el campo. El campo estaba situado en la provincia de Murcia, España. El riego se realizó con tubos de riego colocados en la parte superior de los parterres elevados, entre las hileras de plantas. Las plantas se mantuvieron en esta ubicación hasta el final de los ensayos.

### **2.1.2 Diseño del ensayo**

Se realizaron dos ensayos independientes durante dos años consecutivos, denominados Año 1 y Año 2 (Y1 e Y2 respectivamente). Se utilizó el mismo diseño de ensayo para ambas pruebas, que se detalla a continuación.

Se ensayaron cinco líneas vegetales diferentes en el campo, entre ellas la NCIMB 42086 y las variedades de control Mafalda y Scala (ambas variedades de Nunhems / Bayer CropScience Vegetable Seeds). Tanto Mafalda como Scala son resistentes a Nr:0, pero susceptibles a Nr:1. Scala es un tipo cos/Romaine.

Se utilizaron camas elevadas para cada ensayo. En cada lecho elevado se sembraron plantas en repeticiones de 16 plantas y se sembraron 5 repeticiones por lecho elevado. La prueba fue parcialmente aleatoria, es decir, los ensayos se trasplantaron para garantizar que cada una de las líneas de plantas estuviera representada en cada lecho elevado, pero para cada lecho elevado, el orden de las repeticiones fue aleatorio.

### **2.1.3 Insectos e inoculación**

El objetivo de los ensayos era investigar *N. ribisnigri* resistencia a Nr:1 en condiciones de campo. Las plantas no se inocularon a propósito, sino que se dejaron infestadas con la población natural de pulgones Nr:1. Al final de los ensayos se recogieron muestras de insectos para su identificación al microscopio.

### **2.1.4 Recogida y análisis de resultados**

La resistencia de las diferentes líneas de plantas probadas se evaluó contando el número de áfidos presentes en cada una de las plantas. El recuento se realizó 14 semanas después del trasplante durante el ensayo Y1 y 11 semanas después del trasplante durante el ensayo Y2

### **2.1.5 - Resultados de la prueba de campo de libre elección Año 1 y Año 2**

En ambos ensayos las plantas adultas (de 18 a 20 semanas de edad) de NCIMB42086 no tenían ningún áfido, mientras que la variedad de control Mafalda y la variedad susceptible a Nr:1 Scala tenían un número significativo de áfidos del biotipo Nr:1.

## **2.2 Ensayo de campo sin elección**

### **2.2.1 - Crecimiento de la planta**

Durante el año 2, se llevó a cabo un ensayo en jaula sin elección, junto con el ensayo de libre elección descrito anteriormente. Como se ha descrito anteriormente, las plantas se germinaron en un invernadero sin calefacción antes de ser transferidas a camas elevadas en los campos unas 7 a 9 semanas después de la siembra. El agua también se suministraba a través de tubos colocados entre las plantas en la parte superior de los parterres elevados. Sin embargo, a diferencia de los ensayos de libre elección, las plantas se encerraron en jaulas (de aproximadamente 10m<sup>3</sup> cada una) construidas con malla a prueba de insectos (el tamaño de la malla era suficiente para evitar la entrada de Thrips).

### **2.2.2 - Diseño del ensayo**

Se utilizaron dos jaulas individuales en el campo. En cada jaula se utilizaron dos camas elevadas. Se utilizaron 20 plantas en cada lecho, es decir, 40 plantas por jaula.

Se trasplantó una sola línea de plantas en cada jaula, es decir, NCIMB42086 o Mafalda.

### **2.2.3 Insectos e inoculación**

Los áfidos de *N. ribisnigri* necesarios para la inoculación del material vegetal probado se produjeron en parcelas de plantas de Mafalda que crecían en un campo cercano. Las parcelas fueron infestadas pasivamente con una población natural de pulgón de Nr: 1.

El día de la inoculación (las plantas tenían aproximadamente 8 semanas de edad), se recogieron adultos ápteros de las plantas de Mafalda. A continuación, los pulgones recogidos se transfirieron individualmente a la parte superior de

cada planta analizada con la ayuda de un pincel. Se depositaron exactamente 10 insectos en cada planta examinada.

#### **2.2.4 - Recogida y análisis de datos**

La resistencia de las diferentes líneas de plantas probadas se evaluó contando el número de áfidos presentes en cada planta individual. El recuento se realizó aproximadamente 3 semanas después de la inoculación.

#### **2.2.5 Resultados del ensayo de campo sin elección de plantas semiadultas (plantas de unas 11 semanas)**

Los resultados se muestran en la Figura 4. La variedad NCIMB42086 no tenía ningún pulgón, mientras que la variedad de control Mafalda tenía un número significativo de pulgones del biotipo Nr:1 (>300).

#### **2.2.6 Conclusiones de los ensayos de campo de libre elección y de no elección de plantas semiadultas y adultas**

Los resultados muestran que la resistencia a Nr:1 encontrada en plantas jóvenes (Ejemplo 1, plantas de aproximadamente 8 semanas de edad) de NCIMB 42086 en células climáticas es altamente efectiva en el campo, tanto en ensayos de libre elección como en ensayos de no elección de plantas semiadultas y adultas. La resistencia en el campo parece ser completa (no hay áfidos en absoluto), tanto en condiciones de libre elección como de no elección. NCIMB42086 es, por tanto, resistente a diferentes poblaciones de Nr: 1, alemán, francés y español.

#### **Ejemplo 3 - Mapeo QTL de resistencia a Nr:1**

Para identificar cuántos loci genéticos y qué loci genéticos son responsables de la resistencia a Nr:1 de NCIMB42086, NCIMB42086 se cruzó con un cultivar de lechuga susceptible a *N. ribisnigri*. La F1 se retrocruzó con el progenitor *L. sativa*, para generar una población BC1, que se utilizó para el mapeo de QTL.

Datos de fenotipado (número total de pulgones del biotipo Nr: 1 por planta) se recogió en dos momentos posteriores a la inoculación, dos semanas y tres semanas después de la inoculación con áfidos del biotipo Nr:1.

#### **Resultados**

Se identificaron tres QTL, uno en el cromosoma 6 y dos en el cromosoma 7, como se muestra a continuación y en la Figura 3. La posición física en los cromosomas se basa en el genoma de la lechuga publicado, lgr.genomecenter.ucdavis.edu.

Tabla 1 - Cromosoma 6 - Marcadores SNP vinculados a QTL6.1

Nombre del marcador	Posición en cM	Posición física del SNP (en bases) en el cromosoma 6	Tipo de genotipo de <i>L. sativa</i> susceptible Nr:1 (tipo de genotipo silvestre)	Genotipo de NCIMB42086 (Nr:1 genotipo de resistencia - homo zigón)	Genotipo heterozygous (Nr: 1 genotipo de resistencia - heterozygous)	Secuencia genómica que comprende el SNP
SNP_01	38.3	60688939	TT	AA	EN	TCATATGGATTAACCATGGTG CAAACATAGCTGCCCTGTATA TAATCATCATCCATAAATCATT AAAT[A/T]TGTGAAGTTTATA AAGGTTAGATTGTGAACAGTA AAGTTACCTGCGATTTAGAAG GTATGTGCTT (SEQ ID NO: 1)
SNP_02	115.1	117931305	TT	CC	CT	

ES 2 896 887 T3

Nombre del marcador	Posición en cM	Posición física del SNP (en bases) en el cromosoma 6	Tipo de genotipo de <i>L. sativus</i> susceptible Nr:1 (tipo de genotipo silvestre)	Genotipo de NCIM B4208 6 (Nr:1 genotipo de resistencia - homozigón)	Genotipo heterozigous (Nr: 1 genotipo de resistencia - heterozigoso)	Secuencia genómica que comprende el SNP
						AATCAACATCAAGCCTCTCAA GCTAGCTTCACAACAAGCCCTC ACGTACTCAGGTTCCCCGTGGA CTTC[C/T]GATTGACCGATTGTT TCCCCAAATTGATCCCAAATT TCGTGGCTAATTGAAACATCCTC TCTCTTCACTC (SEQ ID NO: 2)
SNP_03	188.5	161579227	CC	AA	AC	TAGGGTTTGCAGACAAGATCGA GTTGCAGGAGATTCTCCAAGGA CTGCTCTGGCATCTTCCGACG ACAG[A/C]GGTCTTGCTCTCACT GCGACGTTGATTCTCTCCATGG TTGCTCGGATTGGAGTAGGTGG AGAGAGGGTTT (SEQ ID NO: 3)
SNP_04	195.4	191681086	AA	GG	GA	TAGAATAGATTATTGATATGT TCCCTAATGTTGGCTTCCAAAT GTTAATCATAAGTTGTACCAAT ATGT[A/G]ATTAATAAGTTTA ATTAAATGCATTGAAAGGTGA AAATTATACTGTAAACAAGTTG TGAATCTTCAA (SEQ ID NO: 4)
SNP_05	213.9	208949963	CC	TT	TC	CACGACTTGTGCAACAAAAAA CATTAAACAGTAAATGGCAA TTTCCAGGACCAACGTTGTATG TTCA[C/T]GAAGGAGATAAAT TTATGTCAAGGTCCATAACAAT GGAAGATAACAACATCACCATTG ATTGGTATGAAA (SEQ ID NO: 5)
SNP_06	224.7	233786307	AA	CC	CA	

# ES 2 896 887 T3

Nombre del marcador	Posición en cM	Posición física del SNP (en bases) en el cromosoma 6	Tipo de genotipo de <i>L. sativa</i> susceptible Nr:1 (tipo de genotipo silvestre)	Genotipo de NCIM B4208 6 (Nr:1 genotipo de resistencia - homólogo)	Genotipo heterózigos (Nr: 1 genotipo de resistencia - hetero zigó)	Secuencia genómica que comprende el SNP
						TTCTTAATTGCTGGGACATGA TGACATGTTCTGATCTTGTCTT TTGACCTGTAGTCAACGGTCGA CC[A/C]CAACTACCACATGCGTT TGTTCTTAATCTTTCTGATCT GGTTTTGTGTCGTTTTTTTC CTGAAG (SEQ ID NO: 6)
SNP_07	225.6	240318733	TT	GG	GT	CGGAGCTACACGGTGTGTTCT ACTATCTCAGCGTCAGCCCTCA GGAGTCAGGTAGACACAAACATC GCGC[G/T]TTTCTTCCAAAAAC ATTCTTCCTCGAAAGCCCAA TCGATTAGGGATTGCTCTGCT GTTTCTCCTT (SEQ ID NO: 7)

Tabla 2 - Cromosoma 7 - Marcadores SNP vinculados a QTL7.2

Nombre del marcador	Posición en cM	Posición física del SNP (en bases) en el cromosoma 7	Género de <i>L. sativa</i> susceptible Nr:1 susceptible (género tipo wild)	Genotipo de NCIM B4208 6 (genotipo resistente a Nr:1 - homógeno)	Genotipo heterózigos (Nr: 1 genotipo de resistencia - hetero zigó)	Secuencia que comprende el SNP
SNP_08	94.2	72772104	CC	TT	TC	ATGTAAACTGAACCAAAAAGG CTAATCTTCCGCTTAACAACTG TAAAGCTTCTAGTGTAAATAAA GATAC[C/T]AACCCCAATTCTC CTGATTCCATTGTGCTTAGCTCG AAATCAACCAATTGCAAACCTCA ACAATCTATCA (SEQ ID NO: 8)
SNP_09	83.3	93428084	TT	CC	CT	

ES 2 896 887 T3

Nombre del marcador	Posición en cM	Posición física del SNP (en bases) en el cromosoma 7	Género de <i>L. sativa</i> pare nte Nr:1 susceptible (género tipo wild)	Genotipo de NCIM B4208 6 (genotipo resistente a Nr:1 - homógeno)	Genotipo heterózigos (Nr: 1 genotipo de resistencia - heterozygo)	Secuencia que comprende el SNP
						TATATATTAAAATCAAAAAAGT TATTGATTGATATAGTTATTG TTTTGGCTTAAAGTACGTACA AAA[C/T]CAATTATTGCCAATC AAAGACAATGGTGTCTGGTT TCATACTAGTGGGCACATACGA CTGCATGGAG (SEQ ID NO: 9)
SNP_10	77.6	107614854	GG	AA	AG	ATTTGGTACCAAAACTTACAA TTTATACATTACAAATTGAAG AAACCTGCGTGTGCATCAATT GATA[A/G]GAATTGGTAACAAA TTGAGGCCATTGTTTATCTGCA TAACTCGTAAAAACTTCTCTT GTTGCATAAA (SEQ ID NO: 10)
SNP_11	75.7	109323191	AA	CC	CA	TCACCTCTGAAAGAAATTCAAGC TTCTCCTTGTGTGATTGTCAA GAGCCAATTCTTATAGCAAC TAG[A/C]AGCCCATTCTCTAATT TACCTATTAAAAGCCCTAAA AGTCATATATATCTCTACCTT GAACAGCGT (SEQ ID NO: 11)
SNP_12	48.4	desconocido	TT	CC	CT	GTATATATATTATAACCCAG ACAAGTCTATTACAGCACCTCA ATAGAACGATAAAGACTCACAT AGTC[C/T]GTAAATGTTCTCCC ACAATGCCTCCACCATCTCCT CTCGTTCCACTTCAATTGCTACC TGAATAGGTT (SEQ ID NO: 12)
SNP_13	48.4	desconocido	AA	GG	GA	

Nombre del marcador	Posición en cM	Posición física del SNP (en bases) en el cromosoma 7	Género de <i>L. sativa</i> pare nte Nr:1 susceptible (género tipo wild)	Genotipo de NCIM B4208 6 (genotipo resistente a Nr:1 - homógeno)	Genotipo heterózygous (Nr: 1 genotipo de resistencia - heterozygo)	Secuencia que comprende el SNP
						GGAGATGGAGCTGGCCCTATGC ATTTCAAAACAAGCAACAAGTA TTATATAGCCTATCTCACTACC ATTTTATAACGATTCTGAATCTG AATGGGTTGATACACAAGCGTA AAAGAAGCCATTCAAGAGAAC ATT[A/G]AAATGATTATTACCTG CCGAAGGA (SEQ ID NO: 13)
SNP_14	45.1	146394823	TT	CC	CT	CTTGCTCCTTGCAGCTTGTGA GCTTCCGCTTGCCTTTAGCCTT CTCTTTTCCATCTCTCTTCG C[C/T]CGITCTTCTCTTTGCA GCTTATCCTCTTCCCTTTCTT TTTGCCTCTCTTTCTTTTC TTTAT (SEQ ID NO: 14)

Tabla 3 - Cromosoma 7 - Marcadores SNP vinculados a QTL7.1

Nombre del marcador	Posición en cM	Posición física del SNP (en bases) en el cromosoma 7	Tipo de genotipo de <i>L. sativa</i> susceptible Nr:1 (tipo de genotipo silvestre)	Genotipo de NCIM B4208 6 (Nr:1 genotipo de resistencia - homozigón)	Genotipo heterózygous (Nr: 1 genotipo de resistencia - heterozygo)	Secuencia que comprende el SNP
SNP_15	41.5	170366427	AA	TT	TA	AATTGTGAAATCTCCATAAATG TTTAGGTGATGAAAAAAGGAT TGAGTGAGGACCCCTGATCAAA TTGG[A/T]CAAAAATCCACTCG ATCTCTTGAATATGTCAAAGA GTTTGTATGCCAAAAACCTGCA AATGGAAAATAA (SEQ ID NO: 15)
SNP_16	33.5	196777876	AA	GG	GA	

ES 2 896 887 T3

Nombre del marcador	Posición en cM	Posición física del SNP (en bases) en el cromosoma 7	Tipo de genotipo de <i>L. sativa</i> susceptible Nr:1 (tipo de genotipo silvestre)	Genotipo de NCIM B4208 6 (Nr:1 genotipo de resistencia - homozigón)	Genotipo heterózigos (Nr: 1 genotipo de resistencia - heterozigoto)	Secuencia que comprende el SNP
						ATTTCGTGGTATATTCTATCA ATCAGTGCATAAAATATCATC AGAAAATATGTGAATGATTTA GAT[A/G]TTAACATATATATGG TGGAGATTTAGTGTAGAGG AATAGAGATAAGGTGGTATTCT AACGAAAGCG (SEQ ID NO: 16)
SNP_17	29.6	208734444	CC	TT	TC	GGGGCAAAAGTGTCCCTACGTA TTGAGCACGAAAGAGAAATTCTC TGTCGCTATTGCACAAGTCTA CAGC[C/T]AGCTGTTAAGGAA CACTTTCGGTTGAGTTGCTTG GAGATGTTATATCCAAATCCAT TGATCCACTTG (SEQ ID NO: 17)
SNP_18	29.6	212123542	CC	GG	GC	TTGTATAATTAATCGACTTGTAA AGACTTTATTGCCTAGCTTC AGCTTGCTTTATTATAAAAC TT[C/G]CTGTCTTCGATTGGT TAAATCACAAACTTGGCTGCT TCAAGTCTTCATTAAATCTCT AGTCTAAC (SEQ ID NO: 18)
SNP_19	27.3	218612262	AA	GG	GA	ATGTTCATCCATGTATTACACT ATTATTGTTGTTATGCATTGA TTTCACTGTTGTAGTTCTTT AT[A/G]TCACTAGAACATGRM ATCCTGAARGCTTAGTGCAT CAGATCAAGCTCAACACTCCA GTTCATTAAG (SEQ ID NO: 19)
SNP_20	22.9	desconocido	CC	TT	TC	CCATGWGTGTTCTCTCCCTCC TGCTGAAGATTTCAGGAATT CGCTCTCTCAATTCTCTTC TTC[C/T]AAAAGATTCTTCATC TTCATCTCTCTCCCTCTCGT TTTCTCCRTATTGGTCCCAG AATCGATT (SEQ ID NO: 20)

Nombre del marcador	Posición en cM	Posición física del SNP (en bases) en el cromosoma 7	Tipo de genotipo de <i>L. sativa</i> susceptible Nr:1 (tipo de genotipo silvestre)	Genotipo de NCIM B4208 6 (Nr:1 genotipo de resistencia - homocigótico)	Genotipo heterocigous (Nr: 1 genotipo de resistencia - heterocigoto)	Secuencia que comprende el SNP
SNP_21	16.7	desconocido	AA	CC	CA	CAACCACCCACMCCCAACGTTCTATCTGGCCAGATGAAC[A/C]ACGACAAGTCTTGAGATGACAGAAGAATTGATAAGAGAATAACTGTAAGACACCTCCGTTGCATTAATAACCATGTCGGC(SEQ ID NO: 21)
SNP_22	13.8	232806419	TT	CC	CT	CAGAGAGGGGTGTTTGCTTCTTGAAAATGTCAGATTCTATAAGGAGGAAGAAAAGAACGATCCTGAATT[C/T]GCAAAGAACGCTTGCACTCACTAGCAGACCTGTATGTTAATGATGCATTGGCACTGCACTAGAGCACATG(SEQ ID NO: 22)

#### Ejemplo 4 - Mapeo QTL de resistencia a Nr:1

Se llevó a cabo un nuevo fenotipado y análisis de marcadores en dos poblaciones retrocruzadas para mapear resistencia a Nr:1. El fenotipado se llevó a cabo como se ha descrito anteriormente.

- 5 En el cromosoma 6 y en el cromosoma 7 se mapearon dos QTL con una puntuación LOD significativa, que comprenden el QTL6.1 y el QTL7.1. Los resultados también se muestran en la Figura 3B.

Tabla 4 - Cromosoma 6 - Marcadores SNP vinculados a QTL6.1

Nombre del marcador	Posición física del SNP (en bases) en el cromosoma 6	Genotipo del progenitor <i>L. sativa</i> susceptible Nr:1 (genotipo de tipo silvestre)	Genotipo resistente Nr:1 (homocigótico)	Genotipo resistente Nr:1 (heterocigoto)	Secuencia genómica que comprende el SNP
SNP1.23	77007835	TT	CC	TC	CATAAATAATAATTGCTAATACCCCCTGCAGTGCAAACGGGAGGGGAATCCTGGATGTTCAAGCTGGAT[T/C]GAAACTCTAGAAAAAGAGGTGATGGAATACTTTAGTGAAAATKTTAACATATTAGAAGATGATGGYACA (SEQ ID NO: 23)

Nombre del marcador	Posición física del SNP (en bases) en el cromosoma 6	Genotipo del progenitor <i>L. sativa</i> susceptible Nr:1 (genotipo de tipo silvestre)	Genotipo resistente Nr:1 (homocigótico)	Genotipo resistente Nr:1 (heterocigoto)	Secuencia genómica que comprende el SNP
SNP_02	117931305	TT	CC	CT	AATCAACATCAAGCCTCTCAA GCTAGCTTCACAACAAGCCCTC ACGTACTCAGGTTCCCGTGGAA CTTC[C/T]GATTGACCGATTGTT TCCCCAAATTGATCCCAAATT TCGTGGCTAATTGAACATCCTC TCTCTTCACTC (SEQ ID NO: 2)
SNP2.24	145870505	CC	TT	CT	TGCATACATACCTTAGGCAATT GGTAGCTGATGTTGAATTCTCA ATTGGTTGGAACTCTAAATGCT TCCT[C/T]AAAGTTCGTAAAAG AGAAACATGAATAGAATCAAT CAATAAGSTAGGAGACTTGCTT CTAATGGATGCCA (SEQ ID NO: 24)
SNP_03	161579227	CC	AA	AC	TAGGGTTTGCAGACAAGATCG AGTTGCCGGAGATTCTCCAAG GAUTGCTCTGGCATCTCCGA CGACAG[A/C]GGTCTTGCCTCTC ACTGCGACGTTGATTCTCTCCA TGGTTGCTCGGATTGGAGTAG GTGGAGAGAGGGTTT (SEQ ID NO: 3)

Tabla 5 - Cromosoma 7 - Marcadores SNP vinculados a QTL7.1

Nombre del marcador	Posición física del SNP (en bases) en el cromosoma 6	Tipo de genoteca del progenitor <i>L. sativa</i> susceptible de Nr:1 (tipo de genoteca silvestre)	Nr:1 genotipo de resistencia (homocigógeno)	Genotipo resistente Nr:1 (heterocigoto)	Secuencia genómica que comprende el SNP 5
SNP_17	208734444	CC	TT	TC	GGGGCAAAAGTGTCTTAC GTATTGAGCACGAAAGAGA ATCTCTGTCGCTATTGCA CAAGTCTACAGC[C/T]AGCT GTTAAGGAACACTTTCG GTTGAGTTGCTTGGAGAT GTTATATCCAATCCATTG ATCCACTTG (SEQ ID NO: 17)

Nombre del marcador	Posición física del SNP (en bases) en el cromosoma 6	Tipo de genoteca del progenitor <i>L. sativa</i> susceptible de Nr:1 (tipo de genoteca silvestre)	Nr:1 genotipo de resistencia (homo zigógeno)	Genotipo resistente Nr:1 (heterocigoto)	Secuencia genómica que comprende el SNP 5
SNP17.25	211928662	CC	TT	CT	CGCATCATCGACCTCTCAT TTAATTCACTTTCTGGTGAT CTGCCACATCAGTACTTCC AGGATTGGTCAG C/T AAT GAAGGAGACAAAACAAAA TGCAGCATATATGCAAKCA AATGTTGATATTTGGGGG AAARGTACATC (SEQ ID NO: 25)
SNP_18	212123542	CC	GG	GC	TTGTATATTAAATCGACTTT GTAAGACTTTATTCGCCTA GCTTCAAGCTTGCTTTTAT TTATAAAACTT C/G CTGTC TTTCGATTGGTTAAATCAC AAACTTGGCTGCTTCAG TCTTCATTTAAATCTCTAG TCTAAC (SEQ ID NO: 18)
SNP_19	218612262	AA	GG	GA	ATGTTCATCCATGTATTAC ACTATTATTGTTGTTATG CATTGATTTCACTGTTGTT AGTTCTTTAT[A/G]TCACT AGAACAAATGRMATCCTGA ARGCTTAGTGCACTAGAT CAAGCTTCAACACTCCAGT TCATTAAG (SEQ ID NO: 19)

5 Los QTL6.1 y QTL7.1 fueron identificados en dos tipos diferentes de accesión de *L. virosa* resistentes a Nr: 1 y se identificaron los marcadores específicos de la accesión, que pueden distinguir las introgresiones y el origen de la introducción. Los marcadores VSP1 y VSP2 se identifican en un tipo de acceso, representado por NCIMB42086, y los marcadores VSP3 y VSP4 en otro tipo de acceso.

Tabla 6 - Marcadores específicos de la accesión de *L. virosa* para el QTL6.1

Nombre del marcador	Posición física del SNP (en bases) en el cromosoma 6	Tipo de genotipo de <i>L. sativa</i> susceptible Nr:1 (tipo de genotipo silvestre)	Nr:1 genotípico resistente - (homo zygous)	Nr:1 genotípico resistente - (hete rozygous)	Secuencia genómica que comprende el SNP
VSP1	79356899	TT	GG	GT	

Nombre del marcador	Posición física del SNP (en bases) en el cromosoma 6	Tipo de genotipo de <i>L. sativ</i> a susceptible Nr:1 (tipo de genotipo silvestre)	Nr:1 genotípico resistente - (homo zygous)	Nr:1 genotípico resistente - (hetero zygous)	Secuencia genómica que comprende el SNP
					TTCATGCTTCTCACTCCATGTGTAAGTA GCTCCTTATGGGTAAATGGGTGTCAC GGAACAACAACGTAA[G/T]AAAATCCT TAGATAAACCTTTGTAACATCCAAC AATCCTAGGATACTACAAGTCTCAGTG GGACTTT (SEQ ID NO: 26)
VSP3	79357567	CC	AA	AC	AAAGTGCATAGTCTTGAGCTCTTC CATGAGAAGTTCTCTCATTCCTCTAC CTTGGGCACCAAAATC[C/A]TATTGG AATTCGTTAACCTTTATTGTTGTAC TAAATGCTAACATTGCCTAACCGTT CCACCTT (SEQ ID NO: 27)

Tabla 7 - Marcadores específicos de la accesión de *L. virosa* para el QTL7.1

Nombre del marcador	Posición física del SNP (en bases) en el cromosoma 7	Tipo de genotipo de <i>L. sativ</i> a susceptible Nr:1 (tipo de genotipo silvestre)	Nr:1 genotípico resistente - homo zygous)	Nr:1 genotípico resistente - heterógeno)	Secuencia genómica que comprende el SNP
VSP2	203852532	AA	CC	AC	TATAAATGTGTTGCAAGAAAATGAAT TTCAAGAAAGCAAATGTAATCACTCTT TTTAATTATTTGTAG[A/C]ACATCGTA CTGATCATTTGAGAAGTTGATCAA AGTTTATCTATTATCCAATTGATCAC TTGAAA (SEQ ID NO: 28)
VSP4	212050206	AA	GG	AG	GTCATCAATTCCCTTAGCTTTATC AAGGAAATATTCTTTCCCTCGTAGCG AAGGGCCATATGAAT[A/G]TTTCAGAT CCAATCGTTGAAGTTGACCCATCGAA GATAATTCTCCAACCAATTGATGAG TGAGACCA (SEQ ID NO: 29)

**Ejemplo 5 - Experimento de la jaula con clip**

Las dos accesiones silvestres de *L. virosa* mencionadas anteriormente comprenden niveles igualmente altos de Nr: 1, pero NCIMB 42086 tiene una resistencia aún mayor, ya que el desarrollo de las ninfas de Nr: 1 se detiene antes en las plantas de NCIMB 42086 en comparación con la otra accesión de *L. virosa*, como se encontró en un

5 experimento de jaula con pinzas.

El experimento se realizó con ninfas de un día de edad. Se colocó una jaula por planta con al menos 3 pulgones adultos. Un día después de la inoculación, se retiraron todos los adultos dejando sólo 3 ninfas por jaula. Doce días después de la retirada del adulto, se contó el número de adultos (supervivencia), el número de nuevas ninfas y las pieles. El experimento se realizó en un diseño completo aleatorio con 28 réplicas (1 jaula/planta). Las variables se

10 transformaron y se analizaron con ANOVA seguido de la prueba LSD.

La supervivencia y el número de nuevas ninfas fue nulo para ambas accesiones silvestres de *L. virosa*, mientras que fue de 0,86 (supervivencia media) y 17,57 (número medio de nuevas ninfas) para el control susceptible. Sin embargo, las accesiones silvestres difieren en el número medio de pieles desprendidas (el número medio en NCIMB42086 fue de 0,85, mientras que el número medio en la otra accesión fue de 2,11, y en el control susceptible de 5,85), teniendo NCIMB42086 un número medio de pieles desprendidas significativamente menor, lo que demuestra que el desarrollo de las ninfas se detiene antes en NCIMB42086.

**Lista de Secuencias**

<110> Nunhems B.V.

<120> Plantas de lechuga que comprenden la resistencia contra *Nasonovia ribisnigri* biotipo 1

20 <130> BCS14-8019

<150> 14191135.4

<151>2014-10-30

<160> 29

<170> Patentin versión 3.5

25 <210> 1

<211> 141

<212> ADN

<213> Lechuga

<400>1

tcatatggat taaccattgg tgcaaacata gctgccccctg tatataatca tcatccataa

60

atcattaaat atgtgaagtt ttataaagg ttttagattgt gaacagtaaa gttacctgcg

120

30 attttagaaag gtatgtgctt t

141

<210> 2

<211> 141

<212> ADN

<213> lechuga

35 <400>2

aatcaacatc aagcctcttc aagctagctt cacaacaagc cctcacgtac tcaggttccc

60

cgtggacttc cgattgaccg attgtttccc caaatttgat cccaaatttc gtggctaatt

120

gaacatcatac tctttcaact c

141

<210> 3

<211> 141

<212> ADN

40 <213> lechuga

<400>3

	tagggtttgc gaacaagatc gagttgccgg agattotcca aggactgctc ttggcatctt	60
	ccgacgcacag aggtcttgct ctcactgoga cgttgattct ctccatgggt gctcggttg	120
	gagtaggtgg agagagggtt t	141
5	<210> 4	
	<211> 141	
	<212> ADN	
	<213> lechuga	
	<400>4	
	tagaaatagat ttattgatat gttccttaat gttggattcc aaatgttaat cataagttgt	60
	accaatatgt gattaaataa gtttaattt aaatgcattt aaaggtgaaa attatactgt	120
	aacaagtttg tgaatcttca a	141
10	<210> 5	
	<211> 141	
	<212> ADN	
	<213> lechuga	
	<400>5	
	cacgactttg tgcaacaaaa aacattttaa cagtaaatgg gcaatttcca ggaccaacgt	60
	tgtatgttca tgaaggagat acaattttatg tcaaggttca taacaatgga agataacaaca	120
15	tcaccattca ttggtatgaa a	141
	<210> 6	
	<211> 141	
	<212> ADN	
	<213> lechuga	
20	<400>6	
	ttcttaattt gtctgggaca tcatgacatg ttctgatctt tgcgttttga cctgttagtca	60
	acggtcgacc ccaactacca catgcgtttg ttcttaatct ttttctgatc tggtttttgt	120
	gtcgaaaa ttttcctgaa g	141
25	<210> 7	
	<211> 141	
	<212> ADN	
	<213> lechuga	
	<400>7	
	cggagctaca cgggtcggtt ctactatctc agcgtagcc ctcaggagtc aggtcagacc	60
	aacatcgccg gtttcttccc aaaaacattt tttcctcgaa agccgcaatc gattaggat	120
	tgcgtctgtt gtttcttctt t	141
30	<210> 8	
	<211> 141	
	<212> ADN	
	<213> lechuga	
	<400>8	

# ES 2 896 887 T3

	atgtaaaactg aacccaaaaag gctaattcttc cgcttaacaa ctgtaaagct tctagtgtaa	60
	ataaaagatac taaccccaat ttctcctgat tccatttgtgc ttagctcgaa atcaaccaat	120
	tgcaaactca acaatctatc a	141
5	<210> 9 <211> 141 <212> ADN <213> lechuga	
	<400>9	
	tatataattaa aatcaaaaaa gttattgatt tgatatagtt atttgtttt gctttaaagt	60
	acgtacaaaaa ccaattcatt gccaaatcaaa gacaatggtg ttctgggtt catactagtg	120
	ggcacatacg actgcatgga g	141
10	<210> 10 <211> 141 <212> ADN <213> lechuga	
	<400>10	
	atttggtacc aaaactttac aatttataca tttacaattt gaagaaacct gcgtgttgca	60
	tcaattgata agaattggta acaaattgag ccatttggttt tatactgcata actcggtaaa	120
	aacttcttctt gtttgcataa a	141
15	<210> 11 <211> 141 <212> ADN <213> lechuga	
	<400>11	
	tcacctctga aagaaaattca gtttctcctt gttgtgattt gtcaagagcc aatttcttta	60
	tagcaactag cagcccatct tctaatttac cctattaaaa gcccttaaaa gtcatatata	120
	tctctctacc ttgaacagcg t	141
20	<210> 12 <211> 142 <212> ADN <213> lechuga	
	<400>12	
	gtatataatat attataaccc agacaagtct attacagcac ctcaatagaa cgataaagac	60
	tcacatagtc cgtaaatgtt tctcccacaa tgcctccacc atcttcctct cgttccactt	120
25	caattgctac ctgaataggt tt	142
	<210> 13 <211> 160 <212> ADN <213> lechuga	
30	<400>13	
	ggagatggag ctggccctat gcatttcaaa acaagcaaca agtattatat agcctatctc	60
	actaccattt tataacgatt ctgaatctga atgggttgat acacaagcgt aaaagaagcc	120
	attcaagaga acattgaaat gattattacc tgccgaagga	160

<210> 14		
<211> 141		
<212> ADN		
<213> lechuga		
5 <400>14		
cttgctaccc tgcagctttg ttagcttccg cttgctttt agccttctt ttttccatct	60	
ctctattcgc ccgttcttcc tctttgcag ctttatactc ttccatttc tttttgcct	120	
cttcttttc tttttcttta t	141	
<210> 15		
<211> 141		
<212> ADN		
10 <213> lechuga		
<400>15		
aattgtgaaa tctccataaa tgttttaggt gatgaaaaaa ggattgagtg aggacccctg	60	
atcaaattgg tcaaaaatcc actcgatctc tttgaatatg tcaaagagtt tgtatgccaa	120	
aaacctgcaa atggaaaata a	141	
<210> 16		
<211> 141		
<212> ADN		
15 <213> lechuga		
<400>16		
attttcgtgg tatatttcta tcaatcagtg ctataaaata tcatacagaaa atatgtgaat	60	
gattttagat gttaaacata tatatggtgg agattttagat ttttagagga atagagataaa	120	
ggtggatttc taacgaaaagc g	141	
<210> 17		
<211> 141		
<212> ADN		
20 <213> lechuga		
<400>17		
ggggcaaaag tgtccttacg tattgagcac gaaagagaat tctctgttcg ctattgcaca	60	
agtctacagc tagctgttta aggaacactt ttccgggtgag ttgctttgga gatgttat	120	
ccaaatccat tgatccactt g	141	
25 <210> 18		
<211> 141		
<212> ADN		
<213> lechuga		
<400>18		
ttgtatattt aatcgacttt gtaagacttt atttgcttag cttaagctt gcttttattt	60	
tataaaaactt gctgtctttt cgattggta aatcacaacac tttggctgct tcaagtctt	120	
30 cattttaaatc tcttagtctaa c	141	
<210> 19		
<211> 141		
<212> ADN		
<213> lechuga		

## ES 2 896 887 T3

	<400>19	
	atgttcatcc atgtattaca ctattattgt ttgttatgc attgatttc actgtttgt	60
	gttctttat gtcactagaa caatgrmatc cttgaargct ttagtgcattc agatcaagct	120
	tcaacactcc agttcattaa g	141
5	<210> 20	
	<211> 142	
	<212> ADN	
	<213> lechuga	
	<400>20	
	ccatgwtgt ttcttcttcc tcctgctgaa gatttcagg aattacgctc tcttcaattt	60
	tctttcatt cttaaaagat tttcatctt catcttcttcc ttcttcttgc tttttctccr	120
	tatttggttc ccagaatcga tt	142
10	<210> 21	
	<211> 121	
	<212> ADN	
	<213> lechuga	
	<400>21	
	caaccaccca cmcccaacgt tctatctggc cagatgaact cacgacaagt cttgagatga	60
	cagaagaatt gataagagaa taactgtaag acacccctcggt tgcatataaccatgtcgg	120
	c	121
15	<210> 22	
	<211> 141	
	<212> ADN	
	<213> lechuga	
	<400>22	
	cagagagggg tgtttgattt cttgaaaatg tcagattcta taaggaggaa gaaaagaacg	60
	atcctgaatt cgcaaagaag cttgcacac tagcagacct gtatgttaat gatgcatttg	120
20	gcactgcaca tagagcacat g	141
	<210> 23	
	<211> 141	
	<212> ADN	
	<213> lechuga	
25	<400>23	
	cataaataat aattcgctaa taccctgc agtgcaaacg ggagggaaat cctggatgtt	60
	caagctggat cgaaactcta gaaaaagagg tgatgaaata ctttagtgaa aatkttaaca	120
	tattgagaag atgatggyac a	141
30	<210> 24	
	<211> 141	
	<212> ADN	
	<213> lechuga	
	<400>24	

	tgcatacata ccttaggcaa ttggtagctg atgttgaatt ctcaattgggt tggaactcta	60
	aatgcttcct taaaatgcgt aaaagagaaa catgaataga atcaatcaat aagstaggag	120
	acttgcttct aatggatgcc a	141
5	<210> 25 <211> 141 <212> ADN <213> lechuga	
	<400>25	
	cgcacatcatcg acctctcatt taattcattt tctggtgatc tgccacatca gtacttccag	60
	gattggtcag taatgaagga gacaaaacaa aatgcagcat atatgcaakc aaatgttcat	120
	attttggggg aaargtacat c	141
10	<210> 26 <211> 141 <212> ADN <213> lechuga	
	<400>26	
	ttcatgttcc tcactccatg tgtaagtgc tcctttatgg gtaatggtg tcaacggAAC	60
	aacaactgaa gaaaatcctt agataaacct tttgtAACat ccaactaATC ctaggataCT	120
	acaagtctca gtgggacttt t	141
15	<210> 27 <211> 141 <212> ADN <213> lechuga	
	<400>27	
	aaagtgcata gtcttgtag cttctccat gagaagttct ctcattcctc ctaccttggg	60
	caccaaaaatc atatTTTgga attcgTTTaa tcctttattt tttgtactaa atgctaACat	120
	tttgcctaaa cgttccacct t	141
20	<210> 28 <211> 141 <212> ADN <213> lechuga	
	<400>28	
	tataaatgtg ttgcaagaaa actgaatttc aagaaagcaa atgtaatcac tcttttttaa	60
	ttatTTTgtAG cacatcgtag tgatcatttt gagaagttcg atcaaaaAGTT tatctattat	120
25	cccaatttga tcactttgaa a	141
	<210> 29 <211> 141 <212> ADN <213> lechuga	
30	<400>29	
	gttcatcaat ttccTTAGC tctttatcaa ggaaatattc ttttccTcg tagcgaaggg	60
	ccatatgaat gtttcagatc caatcgTTGA agtttgaccc atcgaagata attctccaa	120
	ccaaatttcat gagtgagacc a	141

## REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para identificar plantas de lechuga silvestre que comprenden QTL6.1 y/o QTL7.1, que comprende las etapas de:

- 5 a) proporcionar una planta de lechuga silvestre o una pluralidad de plantas de lechuga silvestre;  
 b) opcionalmente, probar la planta de lechuga silvestre o la pluralidad de plantas para determinar si son resistentes al biotipo 1 de *Nasonovia ribisnigri* (Nr:1) en un ensayo de resistencia a Nr:1;  
 c) cribado del ADN genómico de la planta o pluralidad de plantas de a), u opcionalmente sólo de la planta o plantas resistentes a Nr:1 identificadas en b), para detectar la presencia de uno o más marcadores indicativos de QTL6.1 y/o indicativos de QTL7.1; y  
 10 d) identificar una planta que comprenda uno o más de dichos marcadores de c);  
 e) opcionalmente, probar la planta de d) para determinar la resistencia a Nr:1 en un ensayo de resistencia a Nr:1;

en el que los marcadores indicativos de QTL6.1 se seleccionan del grupo que consiste en:

- 15 - el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP1.23 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 23;  
 - el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_02 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 2;  
 - el genotipo TT o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP2.24 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 24;  
 20 - el genotipo AA o AC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_03 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 3;  
 - el genotipo GG o GT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido VSP1 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 26;  
 25 - el genotipo AA o AC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido VSP3 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 27;

y en el que los marcadores indicativos de QTL7.1 se seleccionan del grupo que consiste en:

- 30 - el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_17 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 17;  
 - el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP17.25 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 25;  
 - el genotipo GG o GC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_18 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 18;  
 35 - el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_19 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 19;  
 - el genotipo CC o AC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido VSP2 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 28;  
 - el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido VSP4 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 29.

40 2. Un procedimiento de cribado de líneas o variedades de lechuga cultivadas para detectar la presencia de QTL6.1 y/o QTL7.1 que comprende las etapas de:

- 45 a) proporcionar una planta de lechuga cultivada o una pluralidad de plantas de lechuga cultivada;  
 b) opcionalmente, probar la planta de lechuga cultivada o la pluralidad de plantas para determinar si son resistentes al biotipo 1 de *Nasonovia ribisnigri* (Nr:1) en un ensayo de resistencia a Nr:1 (por ejemplo, de libre elección y/o no elección);  
 c) cribar el ADN genómico de la planta o pluralidad de plantas de a), u opcionalmente sólo de la planta o plantas resistentes a Nr:1 identificadas en b), para detectar la presencia de uno o más marcadores indicativos de QTL6.1 y/o indicativos de QTL7.1; y  
 50 d) identificar una planta que comprenda uno o más de dichos marcadores de c);  
 e) opcionalmente, probar la planta de d) para determinar la resistencia a Nr:1 en un ensayo de resistencia a Nr:1;

en el que los marcadores indicativos de QTL6.1 se seleccionan del grupo que consiste en:

- 55 - el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP1.23 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 23;  
 - el genotipo CC o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_02 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 2;  
 - el genotipo TT o CT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP2.24 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 24;  
 - el genotipo AA o AC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_03 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 3;

- 5 - el genotipo GG o GT para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido VSP1 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 26;  
- el genotipo AA o AC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido VSP3 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 27; y en el que los marcadores indicativos de QTL7.1 se seleccionan del grupo que consiste en:

- 10 - el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_17 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 17;  
- el genotipo TT o TC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP17.25 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 25;  
15 - el genotipo GG o GC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_18 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 18;  
- el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido SNP\_19 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 19;  
- el genotipo CC o AC para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido VSP2 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 28;  
- el genotipo GG o GA para el marcador de polimorfismo de un solo nucleótido VSP4 en el nucleótido 71 de SEQ ID NO: 29.

Figura 1A

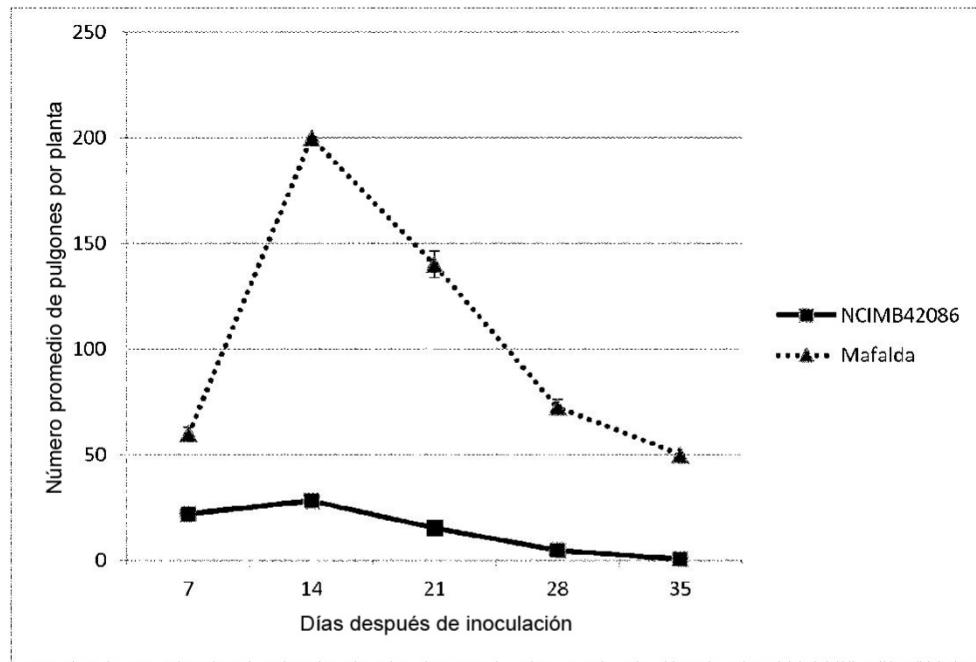


Figura 1B

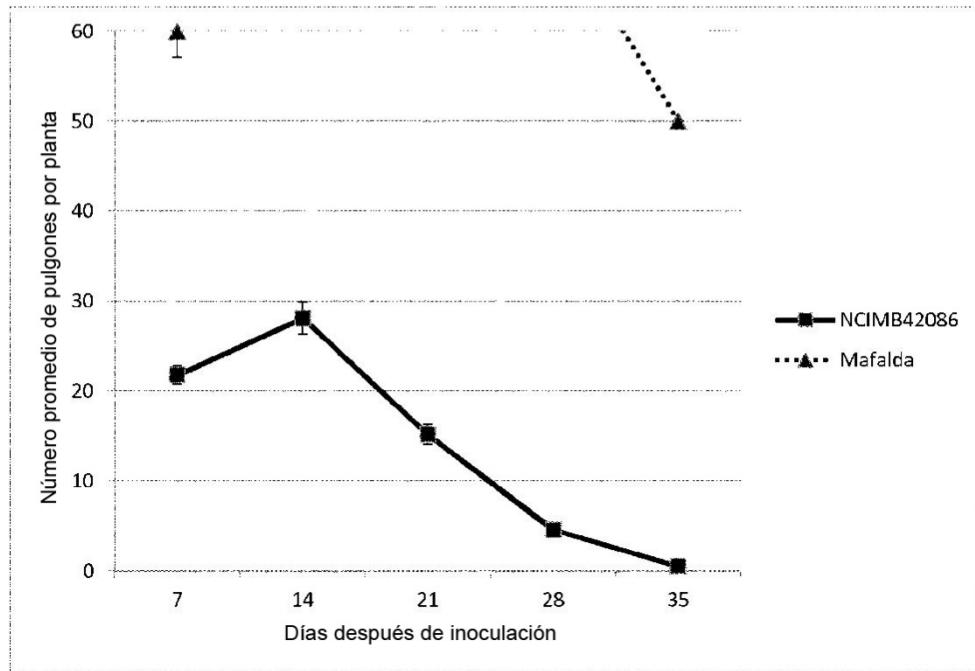


Figura 2A

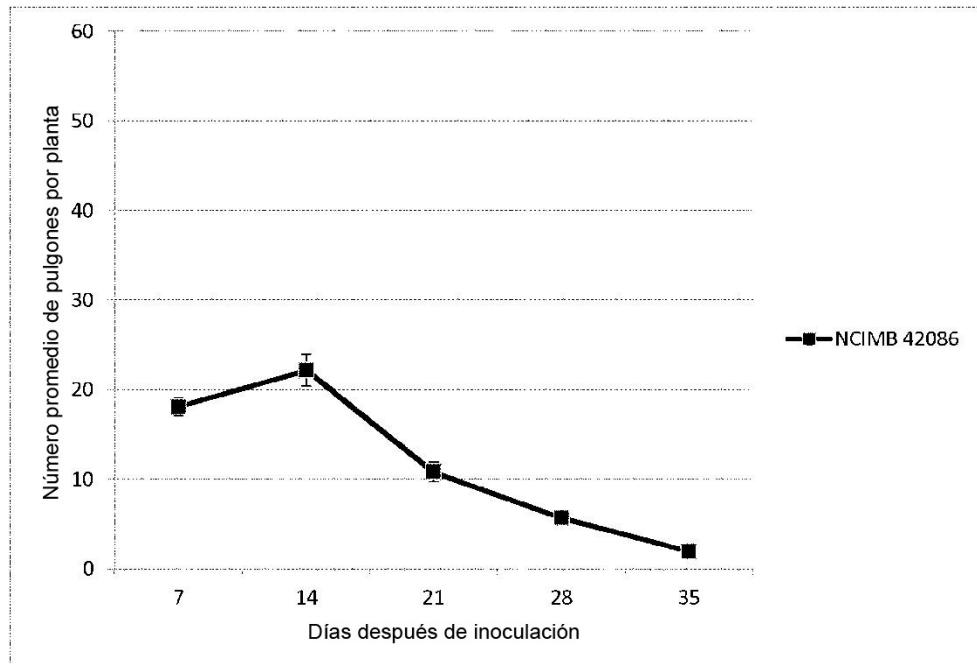


Figura 2B

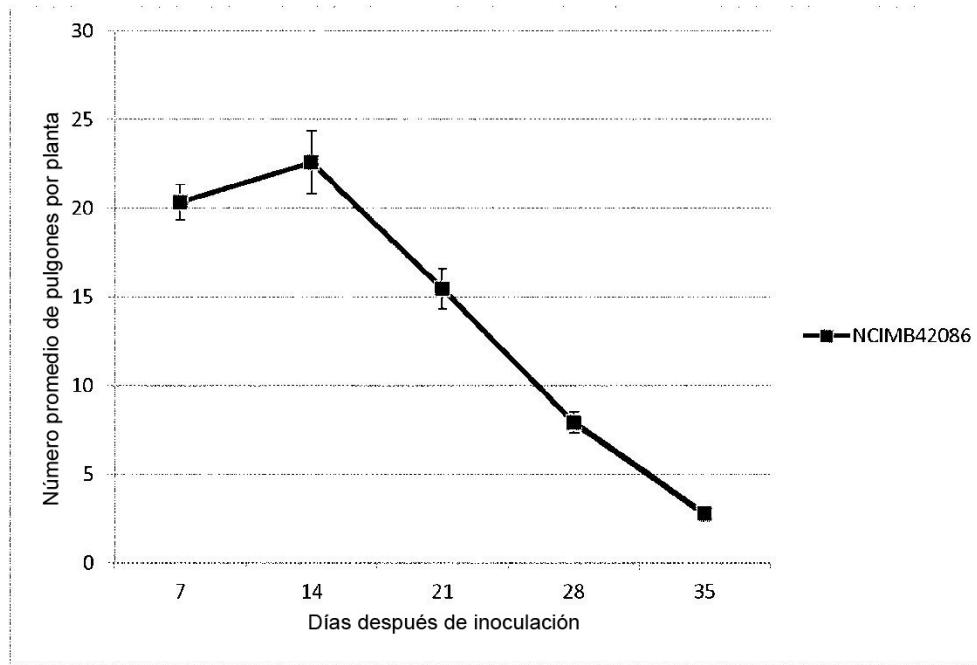


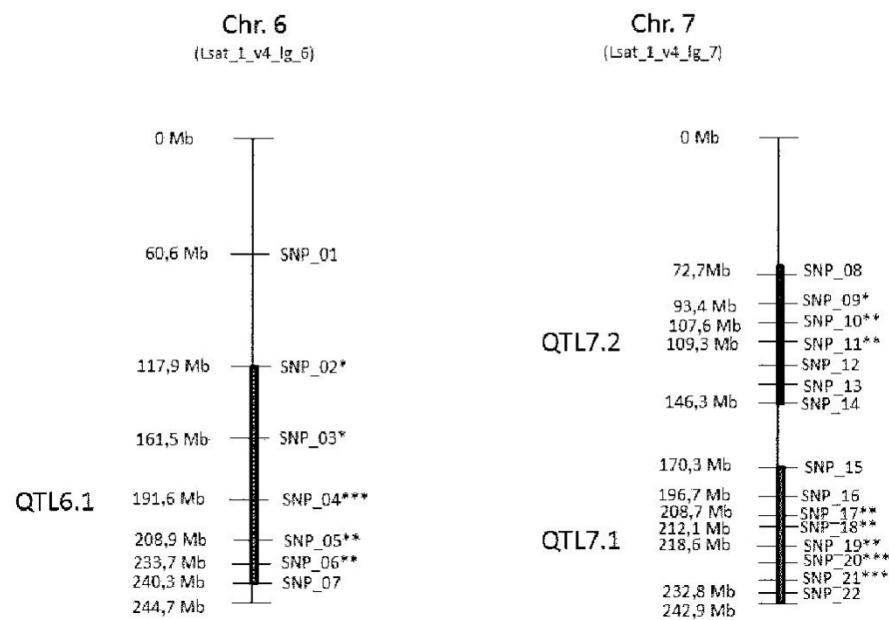
Figura 3A

Figura 3B

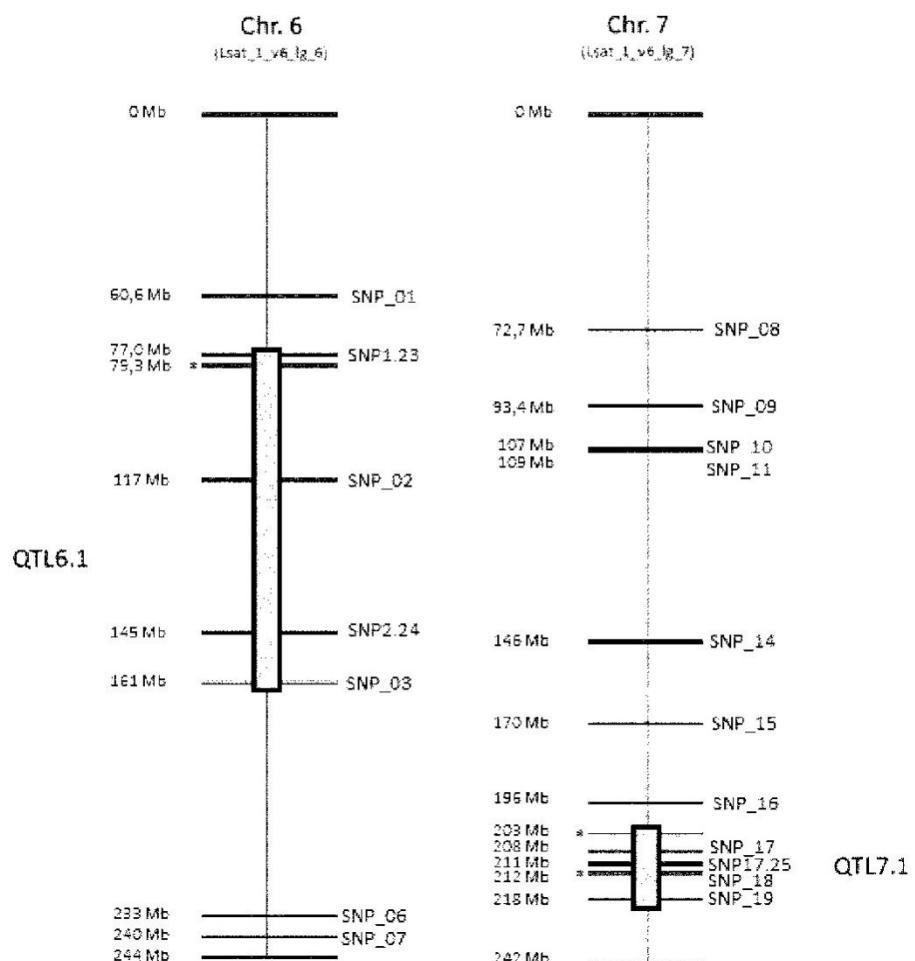


Figura 4

