

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 996 220**

51 Int. Cl.:

A01H 6/20 (2008.01)

C12Q 1/6895 (2008.01)

A01H 1/04 (2006.01)

A01H 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.02.2010 PCT/EP2010/051426**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.08.2010 WO10089374**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.02.2010 E 10708946 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.10.2024 EP 2393349**

54 Título: **Planta de brassica resistente a xanthomonas campestris pv. campestris y preparación de la misma**

30 Prioridad:

06.02.2009 NL 1036531

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

12.02.2025

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**LIGTHART, JOHANNES, THEODORUS,
WILHELMUS;
VEENSTRA, ROELOF, MARINUS;
BIERSTEKER, KLAAS;
DE GEUS, JAN;
HUIJS, HENDRIKUS, STEPHANUS, MARIA y
SCHRIJVER, ALBERTUS, JOHANNES, MARIA**

74 Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

ES 2 996 220 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

Planta de brassica resistente a xanthomonas campestris pv. campestris y preparación de la misma

5 La presente invención se refiere a una planta de Brassica resistente a Xanthomonas campestris pv. campestris (Xcc), y a semillas, frutos y/o partes de la planta.

10 El microorganismo Xanthomonas campestris pv. campestris es el principal agente causante de la podredumbre negra en crucíferas. Este microorganismo es probablemente el principal patógeno de las enfermedades de las crucíferas en todo el mundo. La podredumbre negra se encuentra comúnmente en partes de Europa, América, África, Asia, Australia y Oceanía. La principal planta hospedadora de esta enfermedad bacteriana es la Brassica oleracea. Sin embargo, la podredumbre negra también se encuentra en otras crucíferas, malezas y plantas ornamentales.

15 La infección por Xanthomonas campestris pv. campestris se produce generalmente a través de los hidátodos de las hojas o, en algunos casos, a través de estomas o lesiones. Tras la infección primaria, el microorganismo se esparce a través de los haces vasculares, provocando de este modo venas negras y lesiones en forma de V en las hojas. Como consecuencia, una parte o partes de la hoja se marchitan y amarillean.

20 El Xanthomonas campestris pv. campestris produce una enfermedad transmisible por semillas capaz de infectar plantas a partir de semillas en las primeras etapas del desarrollo. El microorganismo es capaz de sobrevivir en las semillas durante un período de hasta tres años. La infección por el microorganismo también puede producirse a través del almacenamiento de partes de la planta, plantas hospedadoras secundarias y sistemas de riego.

25 No es posible controlar la enfermedad mediante agentes químicos. Las únicas medidas disponibles para combatir la enfermedad son el uso de materiales de partida libres de la enfermedad, es decir, libres de microorganismos, y medidas sanitarias tales como la eliminación de plantas hospedadoras infectadas. El material de partida libre de enfermedad se puede obtener mediante el uso de semillas libres de patógenos o mediante el tratamiento físico de semillas infectadas. Es muy preferible el uso y la disponibilidad de especies de plantas resistentes, que también permanezcan libres de la infección por Xcc durante la estación de crecimiento, para cultivar plantas sanas, es decir, plantas libres de Xcc.

30 La Brassica es un género de plantas de la familia de las Brassicaceae (anteriormente denominadas Cruciferae). Los miembros de este género también se conocen como col o mostaza. El género Brassica comprende varios cultivos agrícolas y hortícolas importantes, incluidos la colza, la coliflor, la col lombarda, la col de Milán, la col blanca, la col corazón de buey, el kale rizado, el brócoli, las coles de Bruselas, la col china, la col nabo y la col portuguesa (trinchuda).

35 Para el consumo se utilizan diversas partes de las plantas de Brassica, tales como las raíces (nabo), los tallos (col nabo), las hojas (p. ej. la col blanca y lombarda), las yemas axilares (brotes) y las flores (coliflor, brócoli). Además, la colza y la semilla de colza también se utilizan para proporcionar aceites vegetales. Algunas especies con flores blancas o moradas, o con un color o forma distintos de las hojas, se cultivan con fines ornamentales.

40 Considerando la importancia de las plantas de Brassica para la producción de alimentos y las pérdidas económicas asociadas a la infección por Xanthomonas campestris pv. campestris, un objeto, entre otros objetos, de la presente invención es proporcionar una planta de Brassica resistente a Xcc.

45 La necesidad de una planta de Brassica resistente a Xcc se indica además por la ausencia de medios adecuados, rentables y eficientes para controlar la podredumbre negra. Por ejemplo, no hay ningún biocida disponible contra la bacteria.

50 Los objetos de la presente invención indicados anteriormente, entre otros objetos, se consiguen [como se describe en] las reivindicaciones adjuntas.

55 Concretamente, los objetos de la presente invención indicados anteriormente, entre otros objetos, se consiguen mediante una planta de Brassica resistente a Xanthomonas campestris pv. campestris que comprende homocigóticamente en su genoma un locus de rasgo cuantitativo 1 (QTL1) y un locus de rasgo cuantitativo 2 (QTL2) de una planta con el número de registro NCIMB 41553;

60 dicho locus de rasgo cuantitativo 1 (QTL1) se caracteriza por los marcadores generados por polimorfismo de microsatélites amplificados aleatorios (RAMP, por sus siglas en inglés) que consisten en un fragmento de 158 a 162 pb con la combinación de cebador de Id. de sec. n.º 1 y cebador 6; un fragmento de 283 a 287 pb con la combinación de cebador de Id. de sec. n.º 2 y cebador 6; un fragmento de 370 a 374 pb con la combinación de cebador de Id. de sec. n.º 3 y cebador 6; y un fragmento de 41 a 45 pb con la combinación de cebador de Id. de sec. n.º 4 y cebador 6;

65 y

dicho locus de rasgo cuantitativo 2 (QTL2) se caracteriza por los marcadores generados por RAMP que consisten en un fragmento de 88 a 92 pb con la combinación de cebador de Id. de sec. n.º 5 y cebador 6; un fragmento de 125 a 129 pb con la combinación de cebador de Id. de sec. n.º 6 y cebador 6; un fragmento de 334 a 338 pb con la combinación de cebador de Id. de sec. n.º 7 y cebador 6; y un fragmento de 47 a 51 pb con la combinación de cebador de Id. de sec. n.º 8 y cebador 6;

donde el cebador 6 indica los kits A-01 a BH20 de oligonucleidos de 10 bases Operon RAPD®; y

donde dicha planta de *Brassica* resistente a *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* se obtiene mediante un método que comprende:

– proporcionar una planta de *Brassica* resistente a *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* con número de registro NCIMB 41553;

– introgresar o combinar genómicamente el locus de rasgo cuantitativo 1 (QTL1) y el locus de rasgo cuantitativo 2 (QTL2) de la NCIMB 41553 en una planta aceptadora de *Brassica* utilizando material genómico aislado de la planta aceptadora y cebadores de Id. de sec. n.º 1 a 8 y cebadores de ADN polimórfico amplificado aleatorio (RAPD, por sus siglas en inglés) de los kits A-01 a BH-20 de oligonucleidos de 10 bases Operon RAPD para identificar el QTL 1 y el QTL 2.

La planta aceptadora de *Brassica* según la presente invención es preferiblemente una planta de *Brassica oleracea*, preferiblemente elegida del grupo que consiste en *Brassica oleracea* convar. *botrytis* var. *botrytis* (coliflor, romanesco), *Brassica oleracea* convar. *botrytis* var. *cymosa* (brócoli), *Brassica oleracea* convar. *botrytis* var. *asparagoides* (brotes de brócoli), *Brassica oleracea* convar. *oleracea* var. *gemnifera* (coles de Bruselas), *Brassica oleracea* convar. *capitata* var. *alba* (col blanca, col corazón de buey), *Brassica oleracea* convar. *capitata* var. *rubra* (col lombarda), *Brassica oleracea* convar. *capitata* var. *sabauda* (col de Milán), *Brassica oleracea* convar. *acephela* var. *sabellica* (kale rizado), *Brassica oleracea* convar. *acephela* var. *gongyloides* (col nabo) y *Brassica oleracea* var. *trunchuda* syn. *costata* (col portuguesa).

Considerando las ventajas de una planta de *Brassica* resistente a Xcc descrita anteriormente, la presente invención se refiere, según otro aspecto, a semillas, frutos y/u otras partes de la planta que comprenden en su genoma un locus de rasgo cuantitativo 1 (QTL1) y un locus de rasgo cuantitativo 2 (QTL2) como se definió anteriormente.

La presente invención se ilustrará aún más usando el siguiente ejemplo de una realización preferida. Este ejemplo pretende ser meramente ilustrativo y no limitar de ningún modo el alcance de la presente invención tal como se describe en las reivindicaciones adjuntas.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1 muestra una prueba de campo en la que están presentes la *Brassica* resistente a Xcc y sensible a Xcc.

Ejemplo

La reproducción de la resistencia a *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc) en *Brassica oleracea* es un proceso complejo. Se describen varias variedades de Xcc y, por lo general, no se observa resistencia a la Xcc en *Brassica oleracea*. Las resistencias descritas en la presente memoria de *Brassica oleracea* a la Xcc son de naturaleza cuantitativa, es decir, la resistencia y su nivel dependen de los antecedentes genéticos. Esto implica que varios genes participan en esta resistencia, lo que hace que se puedan observar grados de resistencia a la Xcc.

Para obtener una planta de *Brassica oleracea* cualitativamente resistente, es decir, que la resistencia se observe independientemente de los antecedentes genéticos, se utiliza una fuente genética en la que la resistencia es esencialmente recesiva. Mediante un programa de retrocruzamiento se introduce la resistencia en varios antecedentes genéticos (líneas precursoras sensibles). El nivel de resistencia de las plantas se determina mediante una prueba de campo. Dado que el rasgo implicado es recesivo, cada cruce con una planta sensible es seguido por una generación endogámica para obtener el rasgo en forma homocigótica. La descendencia de esta generación debe probarse para determinar su nivel de resistencia en una prueba de campo. Como resultado, se necesitarán al menos dos años para una planta anual y al menos cuatro años para una planta bianual, con el fin de visualizar el efecto del nuevo cruce.

Dado que la resistencia implicada se puede expresar como diferentes niveles de resistencia, la resistencia se expresa en valores cuantitativos (en una escala de 0 a 9, donde 0 representa la sensibilidad total y 9 representa la resistencia completa). Se demostró que la resistencia en los diversos antecedentes genéticos mostraba una gradación fenotípica dentro de una distribución normal, en lugar de una simple herencia mendeliana. Esta distribución puede pasar a ser sensible, lo que implica que las generaciones endogámicas, a partir de cruces entre la fuente resistente y varias líneas precursoras sensibles, proporcionan diferentes niveles de plantas resistentes.

Con base en las relaciones de segregación y las diferencias en los niveles de resistencia, se demostró que el nivel de resistencia de la planta está determinado por varios factores genéticos o loci de rasgos cualitativos. Para identificar los marcadores de ADN indicativos o representativos de un rasgo cuantitativo, frecuentemente se utilizan análisis de QTL. Los QTL son regiones cromosómicas independientes que, acopladas a los genes subyacentes, en combinación explican o indican un rasgo genético.

Utilizando marcadores de ADN, se realizó un análisis del QTL que abarcaba el genoma en poblaciones de *Brassica oleracea* con diversos antecedentes genéticos. Con plantas de estas poblaciones diversas, se realizaron pruebas de campo para determinar el nivel de resistencia de las plantas individuales. Los datos del análisis de los marcadores y las puntuaciones de la prueba de campo permitieron la identificación de los QTL responsables de la resistencia a la Xcc observada.

En total, se identificaron seis QTL heredados de forma independiente que contribuyeron, en cierta medida, al nivel de resistencia observado. La variación de los niveles de resistencia observada en el campo entre las plantas es el resultado de la presencia y/o ausencia de los QTL y de las diversas combinaciones de los mismos. De los seis QTL identificados, dos QTL, designados en el presente documento como QTL 1 y QTL 2, estaban presentes en cada antecedente genético que proporcionaba resistencia. En otras palabras, estos dos QTL son indicativos de una resistencia cualitativa, mientras que los otros cuatro QTL restantes parecen contribuir a la resistencia cuantitativa. Uno de estos QTL, es decir, el QTL 1, puede considerarse como el QTL principal, es decir, el QTL que proporciona la mayor contribución a la resistencia observada.

Cada línea endogámica resistente a *Xanthomonas campestris pv. campestris* obtenida mediante el proceso de reproducción posee este QTL principal. El segundo QTL tiene, al igual que el QTL principal, una contribución al nivel de resistencia cuantitativo. Sin embargo, esta contribución no es tan grande como la del QTL principal, aunque también es independiente de los antecedentes genéticos.

Los cuatro QTL restantes se encuentran en los diferentes antecedentes genéticos. Estos cuatro QTL pueden tener una función modificadora que genera una variación del nivel de resistencia.

Esto se ilustra en la tabla 1 siguiente, donde las plantas 1 a 6 de *Brassica oleracea* son ejemplos para ilustrar estas observaciones.

Tabla 1 Visión general de la influencia de los distintos QTL en la resistencia a Xcc.

	QTL1	QTL2	QTL3	QTL4	QTL5	QTL6	Nivel de resistencia
planta 1	+	+	+	+	+	+	resistente
planta 2	+	+	+	+	+	+	resistente
planta 3	-	-	-	-	-	-	sensible
planta 4	-	+	+	+	+	+	sensible
planta 5	+	-	+	+	+	+	sensible
planta 6	-	-	+	+	+	+	sensible
Leyenda de esta tabla: + presente ± puede estar presente, dependiendo de los antecedentes genéticos exactos. - ausente							

El uso de marcadores de ADN asociados a los dos QTL principales, es decir, QTL 1 y QTL 2, brindó la oportunidad de seleccionar plantas resistentes a Xcc.

Una prueba de enfermedad por sí sola no proporcionará inherentemente plantas que tengan ambos QTL en forma homocigótica. La prueba de enfermedad también puede generar plantas con un alto nivel de resistencia que tengan uno o más QTL en forma heterocigótica, lo que inherentemente no proporcionará una resistencia estable.

Realizar una prueba de enfermedad con más de mil plantas solo es posible para un número limitado de cruces. Sin embargo, el uso de marcadores de ADN ofreció la oportunidad de analizar más poblaciones compuestas por mil plantas para preseleccionar las plantas deseadas.

Además de esto, la selección usando marcadores de ADN también ofreció la oportunidad de realizar retrocruzamientos repetidos en los que se mantuvieron los dos QTL principales. Este método ganaba uno o dos años por generación cruzada, lo que significa una aceleración en el programa de reproducción de diez a veinte años. Este método más rápido proporciona una introducción acelerada de la resistencia novedosa a Xcc en variedades híbridas.

Otro factor que complica la producción de variedades híbridas es la presencia requerida de la resistencia recesiva en ambos precursores. Preferiblemente, ambas líneas precursoras, o plantas donantes, son homocigotas para los dos QTL principales. Mediante el uso de marcadores de ADN, la identificación de los precursores homocigotos para los dos QTL principales y, en consecuencia, adecuados para producir un nuevo híbrido resistente, se puede realizar en un período de tiempo relativamente corto.

Las semillas de este tipo de híbrido están depositadas en la NCIMB, Aberdeen, Escocia, AB21, 9YA, Reino Unido, con el número de registro NCIMB 41553.

Los dos QTL principales se caracterizan ambos por cuatro marcadores de ADN que caracterizan su presencia en la fuente. QTL1 es el QTL principal y QTL2 es el QTL secundario.

Los marcadores de ADN se generaron mediante la técnica de RAMP. La técnica de RAMP, en la que se combinan una intersecuencia simple repetitiva (ISSR, por sus siglas en inglés) y un cebador RAPD, proporciona patrones de bandas que comprenden uno o más fragmentos de ADN en los mismos que se cosegregan específicamente con la resistencia. Al mapear los fragmentos R_AMP y las puntuaciones de resistencia al fenotipo, se identificaron marcadores generados por RAMP estrechamente vinculados que identifican el QTL (**tabla 2**). La distancia genética entre los marcadores de ADN dentro del QTL está representada por centimorgans (cM).

Las condiciones generales de PCR utilizadas para generar los marcadores de ADN fueron las siguientes:

PCR mixta para la reacción RAMP:

Por reacción

~ 0,2 ng/μl de ADN genómico de la planta

Tris-HCl 75 mM (pH 8,8)

NH₄SO₄ 20 mM

0,01 % (v/v) Tween20

MgCl₂ 2,8 mM

desoxinucleósido trifosfato (dNTP) 0,25 mM

cebador directo 0,15 μM

cebador inverso 0,20 μM

0,04 unidades/μl de ADN-polimerasa Red Hot® (ABgene, Epsom)

Programa de PCR RAPD35:

		ciclos
etapa 1:	2 min. 93 °C	1
etapa 2:	30 s. 93 °C	
etapa 3:	30 s. 35 °C	
etapa 4:	calentamiento con 0,3°/s hasta 72 °C	
etapa 5:	1 min. 30 s. 72 °C repetir etapas 2-5	40
etapa 6:	5 min. 72 °C	1

PAGE/Licor:

Para el análisis de los patrones de RAMP se utilizó un "anализador de ADN Gene ReadIR 4200" (Licor Inc.). Sobre la base de una concentración óptima del 6,5 % de acrilamida, se pueden separar los fragmentos que tengan una diferencia de tamaño con respecto a una sola base.

Para visualizar los fragmentos en este sistema, es necesario utilizar cebadores etiquetados (etiquetas IRDye). Para ello, se sustituyó un tercio de la cantidad de cebador directo por un cebador etiquetado con una secuencia idéntica.

Visión general de los marcadores

En la investigación que condujo a la presente invención, los cebadores que se muestran en la **tabla 3** se usaron para generar los marcadores de ADN que se muestran en la **tabla 2**.

5 Tabla 2: Visión general de los marcadores generados por RAMP por QTL

QTL	Combinación de cebadores RAMP	Tamaño del fragmento (pb)	Posición en QTL (cM)
1	1.1 + 6	160	10,1
1	1.2 + 6	285	18,5
1	1.3 + 6	372	20,9
1	1.4 + 6	43	21,3
2	2.1 + 6	90	28,5
2	2.2 + 6	127	29, 4
2	2.3 + 6	336	36, 3
2	2.4 + 6	49	37,2

Tabla 3: Visión general de Id. de sec. n.º

Id. de sec. n.º	Cebador	iSSR/RAPD	Secuencia
1	1.1	iSSR	TTA GCT CTC TCT CTC TC
2	1.2	iSSR	CCA GCA CAC ACA CAC A
3	1.3	iSSR	AGA TTC TCT CTC TCT C
4	1.4	iSSR	CAA CTC TCT CTC TCT
5	2.1	iSSR	TTG TAG AGA GAG AGA G
6	2.2	iSSR	TCT CTT CTT CTT CTT C
7	2.3	iSSR	CAA CTC TCT CTC TCT
8	2.4	iSSR	GAA ATC TCT CTC TCT C
6		RAPD	Kits A-01 a BH20 de oligonucleidos de 10 bases Operon RAPD® (Operon Biotechnologies, Inc., Huntsville, EE. UU.)

Las reacciones de PCR con las diversas combinaciones de cebadores proporcionan fragmentos de ácido nucleico con un tamaño de par de bases indicado (véase la **tabla 2**) representativo de la presencia del QTL respectivo. Estos marcadores de ADN son característicos o indicativos de los QTL en cuestión. La combinación de estos marcadores de ADN, que caracterizan al QTL, proporciona pruebas indiscutibles de la presencia de la introgresión del QTL procedente de la fuente resistente a Xcc en la planta donante.

Definiciones

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

Marcador de ADN - Un fragmento de ADN que está vinculado a un gen u otro fragmento de ADN con una ubicación conocida en el genoma, que se utiliza para monitorizar la herencia de este gen o esta ubicación.

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

Generación endogámica (autopolinización) - Fertilización de un individuo con su propio polen.

Introgresión - Un fragmento cromosómico de una línea (cultivar) introducido, mediante cruce, en otra línea (cultivar).

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

Monogénico - Determinado por un solo gen.

5 **PCR** (reacción en cadena de la polimerasa) - Un método de amplificación *in vitro* para multiplicar un fragmento de ADN específico. Esta reacción de síntesis utiliza al menos un cebador oligonucleotídico que se hibrida con un fragmento de ADN, tras lo cual una ADN-polimerasa amplifica la región flanqueadora mediante ciclos de temperatura sucesivos.

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

QTL (locus de rasgo cuantitativo) - región o regiones cromosómicas independientes que, cuando se acoplan a los genes, explican conjuntamente un rasgo.

15 **RAMP** (polimorfismos de microsatélites amplificados aleatorios) - Técnica de huella genética basada en cebadores RAPD e iSSR con la que se detectan polimorfismos entre diferentes muestras de ADN.

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

iSSR (intersecuencia simple repetitiva) - Un cebador diseñado en el extremo 5' de una SSR (secuencia única repetitiva); un fragmento de ADN que consiste en repeticiones de 2 o 3 nucleótidos

25 **BC** (retrocruzamiento) - Cruce de un individuo con uno de los precursores originales.

XCC Xanthomonas campestris pv. campestris.

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Planta de *Brassica* resistente a *Xanthomonas campestris pv. campestris* que comprende homocigóticamente en su genoma un locus de rasgo cuantitativo 1 (QTL1) y un locus de rasgo cuantitativo 2 (QTL2) de una planta con el número de registro NCIMB 41553; dicho locus de rasgo cuantitativo 1 (QTL1) está **caracterizado por** marcadores generados por RAMP que consisten en un fragmento de 158 a 162 pb con la combinación de cebador de Id. de sec. n.º 1 y cebador 6; un fragmento de 283 a 287 pb con la combinación de cebador de Id. de sec. n.º 2 y cebador 6; un fragmento de 370 a 374 pb con la combinación de cebador de Id. de sec. n.º 3 y cebador 6; y un fragmento de 41 a 45 pb con la combinación de cebador de Id. de sec. n.º 4 y cebador 6; y dicho locus de rasgo cuantitativo 2 (QTL2) está **caracterizado por** marcadores generados por RAMP que consisten en un fragmento de 88 a 92 pb con la combinación de cebador de Id. de sec. n.º 5 y cebador 6; un fragmento de 125 a 129 pb con la combinación de cebador de Id. de sec. n.º 6 y cebador 6; un fragmento de 334 a 338 pb con la combinación de cebador de Id. de sec. n.º 7 y cebador 6; y un fragmento de 47 a 51 pb con la combinación de cebador de Id. de sec. n.º 8 y cebador 6; donde el cebador 6 indica los kits A-01 a BH20 de oligonucleidos de 10 bases Operon RAPD®, y donde dicha planta de *Brassica* resistente a *Xanthomonas campestris pv. campestris* se obtiene mediante un método que comprende:
- proporcionar una planta de *Brassica* resistente a *Xanthomonas campestris pv. campestris* con número de registro NCIMB 41553;
 - introgresar o combinar genómicamente el locus de rasgo cuantitativo 1 (QTL1) y el locus de rasgo cuantitativo 2 (QTL2) de la NCIMB 41553 en una planta aceptadora de *Brassica* utilizando material genómico aislado de la planta aceptadora y cebadores de Id. de sec. n.º 1 a 8 y cebadores RAPD de los kits A-01 a BH-20 de oligonucleidos de 10 bases Operon RAPD para identificar el QTL 1 y el QTL 2.
2. Semillas, frutos y/u otras partes de una planta de *Brassica* según la reivindicación 1, cuyas semillas, frutos y/u otras partes de la planta comprenden dicho locus de rasgo cuantitativo 1 (QTL1) y dicho locus de rasgo cuantitativo 2 (QTL2).

Figura 1

