

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 392 332**

51 Int. Cl.:

C12N 15/82

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **10179464 .2**

96 Fecha de presentación: **24.03.2005**

97 Número de publicación de la solicitud: **2292773**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **09.03.2011**

54 Título: **Genes y usos para la mejora de plantas**

30 Prioridad:

25.03.2004 US 556841 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:

07.12.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:

07.12.2012

73 Titular/es:

**MONSANTO TECHNOLOGY LLC (100.0%)
800 North Lindbergh Blvd.
St. Louis, MO 63167, US**

72 Inventor/es:

**ABAD, SCOTT MARK;
GOLDMAN, BARRY S.;
COTTER, JASON;
FERGUSON, ANGIE;
HARTSUYKER, KINDLE KAREN;
JAMES, TODD F.;
KARUNANANDAA, BALASULOJINI;
D'ORDINE, ROBERT;
NORRIS, SUSAN;
ZHOU, LI;
STEIN, JOSHUA y
ROUNSLEY, D. STEVEN**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 392 332 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

Genes y usos para la mejora de plantas

Campo de la invención

5 En el presente documento se desvelan invenciones en el campo de la genética de las plantas y la biología del desarrollo. Más específicamente, la presente invención proporciona semillas transgénicas para cultivos, en las que el genoma de dicha semilla comprende ADN recombinante, cuya expresión produce la producción de plantas transgénicas que tienen rasgo(s) mejorado(s).

Antecedentes de la invención

10 Las plantas transgénicas con rasgos mejorados tales como rendimiento mejorado, tolerancia al estrés medioambiental, resistencia a plagas, tolerancia a herbicidas, composiciones de la semilla modificadas y similares son deseadas tanto por agricultores como por consumidores. Aunque esfuerzos considerables en el cultivo de plantas ha proporcionado beneficios significativos en rasgos deseados, la capacidad para introducir ADN específico en los genomas de la planta proporciona otras oportunidades para la generación de plantas con rasgos mejorados y/o únicos. La capacidad para desarrollar plantas transgénicas con rasgos mejorados depende en parte de la
15 identificación de genes que son útiles en construcciones de ADN recombinante para la producción de plantas transformadas con propiedades mejoradas.

Resumen de la invención

La presente invención proporciona semillas transgénicas, plantas transgénicas y construcciones de ADN con ADN recombinante que mejora rasgos de un gen u homólogo que se ha demostrado que mejora rasgos en una planta
20 modelo. Más específicamente, tal ADN recombinante es de un gen identificado en un cribado de plantas modelo como se desvela en el presente documento u homólogos de tal gen, por ejemplo, de especies relacionadas o en algunos casos de una amplia gama de especies sin relacionar. En aspectos particulares de la invención, el ADN recombinante expresará una proteína que tiene una secuencia de aminoácidos con al menos el 90% de identidad con SEC ID N°: 408. En el presente documento se proporciona la Tabla 2 que identifica las secuencias de
25 homólogos para proteínas codificadas por los genes que mejoran rasgos descritas arriba como apéndice. En algunos casos de la mejora de rasgos, el ADN recombinante codifica una proteína; en otros casos, el ADN recombinante suprime la expresión endógena de proteínas. En un amplio aspecto, la presente invención proporciona semilla transgénica para cultivar plantas de cultivo con rasgos mejorados, incluyendo tales plantas de cultivo con rasgos mejorados y las partes de la planta semilla transgénica producida por tales plantas de cultivo. El rasgo
30 mejorado proporcionado por el ADN recombinante en la planta de cultivo transgénico de la presente invención se identifica por comparación con una planta de control, es decir, una planta sin el ADN recombinante que mejora rasgos. En un aspecto de la invención, la planta de cultivo transgénico cultivada a partir de la semilla transgénica tiene rendimiento mejorado, con respecto al rendimiento de una planta de control, por ejemplo, una planta sin el ADN recombinante que produce el aumento de rendimiento. El aumento del rendimiento puede caracterizarse como
35 aumento del rendimiento de la planta bajo condiciones de no estrés, o por aumento del rendimiento de la planta bajo una o más condiciones de estrés medioambiental que incluyen, pero no se limitan a, estrés por falta de agua, estrés por frío, estrés por calor, estrés por alta salinidad, estrés por sombra y estrés por baja disponibilidad de nitrógeno. Otro aspecto adicional de la presente invención también proporciona plantas transgénicas que tienen otros fenotipos mejorados, tales como desarrollo de la planta, morfología de la planta, fisiología de la planta o composición de la
40 semilla mejorados con respecto a un rasgo correspondiente de una planta de control. Los diversos aspectos de la presente invención son especialmente útiles para semilla transgénica y plantas transgénicas que tienen rasgos mejorados en cultivos de maíz, soja, algodón, canola (colza), trigo, girasol, sorgo, alfalfa, cebada, mijo, arroz, tabaco, frutas y verduras, y césped.

La invención también comprende una construcción de ADN recombinante que comprende un promotor funcional en
45 una célula de planta operativamente ligado a ADN recombinante que mejora rasgos de un gen para una proteína que tiene una secuencia de aminoácidos con al menos el 90% de identidad con SEC ID N°: 408. En un aspecto tal, construcciones de ADN recombinante útiles para la semilla transgénica y plantas transgénicas de la presente invención comprenden un promotor funcional en una célula de planta operativamente ligado a un segmento de ADN para expresar una proteína asociada a un rasgo en una planta modelo o un homólogo. En otro aspecto, las
50 construcciones de ADN recombinante útiles para la semilla transgénica y plantas transgénicas de la presente invención comprenden un promotor funcional en una célula de planta operativamente ligado a un segmento de ADN para suprimir el nivel de una proteína de planta endógena que es un homólogo a una proteína de la planta modelo, estando la supresión asociada a un rasgo mejorado. La supresión puede efectuarse por cualquiera de una variedad de procedimientos conocidos en la técnica, por ejemplo, supresión postranscripcional por antisentido, sentido,
55 ARNbc y similares, o por supresión transcripcional.

La presente invención también proporciona una planta de cultivo transgénico o progenie de la misma que comprende en su genoma la construcción de ADN recombinante que mejora rasgos como se ha definido anteriormente y un procedimiento para preparar una planta de cultivo transgénico, que comprende introducir la

construcción de ADN recombinante como se ha definido anteriormente en el genoma de una línea de planta diana.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a semilla de planta transgénica, en la que el genoma de dicha semilla de planta transgénica comprende un ADN recombinante que mejora rasgos como se proporciona en el presente documento, y la planta transgénica cultivada a partir de tal semilla posee un rasgo mejorado con respecto al rasgo de una planta de control. En un aspecto, la presente invención se refiere a plantas transgénicas en las que el rasgo mejorado es uno o más rasgos que incluyen tolerancia al estrés por sequía mejorada, tolerancia al estrés por calor mejorada, tolerancia al estrés por frío mejorada, tolerancia al estrés por alta salinidad mejorada, tolerancia al estrés por baja disponibilidad de nitrógeno mejorada, tolerancia al estrés por sombra mejorada, crecimiento y desarrollo de la planta mejorados en los estados de imbibición de semillas durante la fase vegetativa temprana, y crecimiento y desarrollo de la planta mejorados en los estados de desarrollo de hojas, producción de flores y madurez de la semilla. De particular interés son las plantas transgénicas cultivadas a partir de semillas transgénicas proporcionadas en el presente documento en las que el rasgo mejorado es el aumento del rendimiento de las semillas. Las construcciones de ADN recombinante desveladas por la presente invención comprenden polinucleótidos recombinantes que proporcionan la producción de ARNm para modular la expresión génica, confiriendo rasgos mejorados a las plantas.

Como se usa en el presente documento, "gen" se refiere a ADN cromosómico, ADN de plásmido, ADNc, ADN sintético u otro ADN que codifica un péptido, polipéptido, proteína o molécula de ARN, y regiones que flanquean las secuencias codificantes que participan en la regulación de la expresión.

Como se usa en el presente documento, "semilla transgénica" se refiere a una semilla de planta cuyo genoma ha sido alterado por la incorporación de ADN recombinante, por ejemplo, por transformación como se describe en el presente documento. El término "planta transgénica" se usa para referirse a la planta producida a partir de un evento de transformación original, o progenie de posteriores generaciones o cruces de una planta con una planta transformada, mientras que la progenie contenga el ADN recombinante en su genoma. Como se usa en el presente documento, "ADN recombinante" se refiere a un polinucleótido que tiene una modificación genéticamente manipulada introducida por combinación de elementos endógenos y/o exógenos en una unidad de transcripción, manipulación por mutagénesis, enzimas de restricción y similares, o simplemente insertando múltiples copias de una unidad de transcripción nativa. El ADN recombinante puede comprender segmentos de ADN obtenidos de diferentes fuentes, o segmentos de ADN obtenidos de la misma fuente, que han sido manipulados para unir segmentos de ADN que no existen naturalmente en la forma unida. Un polinucleótido recombinante puede existir fuera de la célula, por ejemplo, como un fragmento de PCR, o integrarse en un genoma, tal como un genoma de planta.

Como se usa en el presente documento, "rasgo" se refiere a una característica fisiológica, morfológica, bioquímica o física de una planta o material o célula de planta particular. En algunos casos, esta característica es visible para el ojo humano, tal como tamaño de la semilla o planta, o puede medirse por técnicas bioquímicas, tales como detectando el contenido de proteína, almidón o aceite de la semilla u hojas, o por observación de un proceso metabólico o fisiológico, por ejemplo, midiendo la captación de dióxido de carbono, o por la observación del nivel de expresión de un gen o genes, por ejemplo, empleando análisis Northern, RT-PCR, ensayos de expresión génica de micromatrices o sistemas de expresión de genes indicadores, o por observaciones agrícolas tales como tolerancia al estrés, rendimiento o tolerancia a patógenos.

Como se usa en el presente documento, "planta de control" es una planta sin ADN recombinante que mejora rasgos. Una planta de control se usa para medir y comparar la mejora de los rasgos en una planta transgénica con tal ADN recombinante que mejora rasgos. Una planta de control adecuada puede ser una planta no transgénica de la línea parental usada para generar una planta transgénica en el presente documento. Alternativamente, la planta de control puede ser una planta transgénica que comprende un vector vacío o gen marcador, pero no contiene el ADN recombinante que produce la mejora de rasgos. Una planta de control también puede ser una progenie segregante negativa de planta transgénica hemigótica. En ciertas demostraciones de mejora de rasgos, el uso de un número limitado de plantas de control puede producir una amplia variación en el conjunto de datos de control. Para minimizar el efecto de la variación dentro del conjunto de datos de control se usa una "referencia". Como uso en el presente documento, una "referencia" es una media recortada de todos los datos de tanto plantas transgénicas como de control cultivadas bajo las mismas condiciones y en el mismo estado de desarrollo. La media recortada se calcula eliminando un porcentaje específico, es decir, el 20%, de la observación más pequeña y más grande del conjunto de datos y luego calculando el promedio de la observación restante.

Como se usa en el presente documento, "mejora de rasgos" se refiere a una diferencia detectable y deseable en una característica en una planta transgénica con respecto a una planta de control o una referencia. En algunos casos, la mejora de rasgos puede medirse cuantitativamente. Por ejemplo, la mejora de rasgos puede implicar al menos una diferencia deseable del 2% en un rasgo observado, al menos una diferencia deseable del 5%, al menos aproximadamente una diferencia deseable del 10%, al menos aproximadamente una diferencia deseable del 20%, al menos aproximadamente una diferencia deseable del 30%, al menos aproximadamente una diferencia deseable del 50%, al menos aproximadamente una diferencia deseable del 70%, o al menos aproximadamente una diferencia del 100%, o una diferencia deseable incluso mayor. En otros casos, la mejora de rasgos sólo es medida cualitativamente. Se sabe que puede ser una variación natural en un rasgo. Por tanto, la mejora de rasgos

observada implica un cambio de la distribución normal del rasgo en la planta transgénica en comparación con la distribución de rasgos observada en una planta de control o una referencia, que se evalúa por procedimientos estadísticos proporcionados en el presente documento. La mejora de rasgos incluye, pero no se limita a, aumento del rendimiento, que incluye aumento del rendimiento bajo condiciones de no estrés y aumento del rendimiento bajo condiciones de estrés medioambiental. Las condiciones de estrés pueden incluir, por ejemplo, sequía, sombra, enfermedad fúngica, enfermedad vírica, enfermedad bacteriana, infestación por insectos, infestación por nematodos, exposición a temperaturas bajas, exposición al calor, estrés osmótico, disponibilidad reducida de nutrientes de nitrógeno, disponibilidad reducida de nutrientes de fósforo y alta densidad de plantas. Muchos rasgos agronómicos pueden afectar el “rendimiento” que incluyen, sin limitación, altura de la planta, número de vainas, posición de las vainas en la planta, número de entrenudos, incidencia de rotura de vainas, tamaño de grano, eficiencia de nodulación y fijación de nitrógeno, eficiencia de la asimilación de nutrientes, resistencia a estrés biótico y abiótico, asimilación de carbono, arquitectura de la planta, resistencia al encamado, porcentaje de germinación de semillas, vigor de los plantones y rasgos juveniles. Otros rasgos que pueden afectar el rendimiento incluyen eficiencia de germinación (incluyendo germinación en condiciones de estrés), velocidad de crecimiento (incluyendo velocidad de crecimiento en condiciones de estrés), número de espigas, número de semillas por espiga, tamaño de la semilla, composición de la semilla (almidón, aceite, proteína) y características del relleno de la semilla. También es de interés la generación de plantas transgénicas que demuestran propiedades fenotípicas deseables que pueden o pueden no conferir un aumento en el rendimiento de la planta global. Tales propiedades incluyen morfología de la planta mejorada, fisiología de la planta o componentes mejorados de la semilla madura recolectada de la planta transgénica.

Como se usa en el presente documento, “medioambiente limitante del rendimiento” se refiere a la condición bajo la que una planta tendría la limitación del rendimiento que incluye condiciones de estrés medioambiental.

Como se usa en el presente documento, “condición de estrés” se refiere a la condición no favorable para una planta que afecta adversamente el metabolismo, crecimiento y/o desarrollo de la planta. Una planta bajo la condición de estrés normalmente muestra velocidad de germinación reducida, crecimiento y desarrollo retardados, velocidad de fotosíntesis reducida y que conduce eventualmente a la reducción en el rendimiento. Específicamente, el “estrés por falta de agua” usado en el presente documento se refiere preferentemente a condiciones inferiores a las óptimas para el agua y humedad necesarias para el crecimiento normal de plantas naturales. El contenido relativo de agua (CRA) puede usarse como una medida fisiológica de la falta de agua de la planta. Mide el efecto del ajuste osmótico en el estado de agua de la planta cuando una planta está bajo condiciones de estrés. Las condiciones que pueden producir estrés por falta de agua incluyen estrés osmótico inducido por calor, sequía, alta salinidad y PEG.

“Estrés por frío” usado en el presente documento se refiere preferentemente a la exposición de una planta a una temperatura por debajo (dos o más grados Celsius por debajo) de la normal para una especie particular o cepa particular de planta.

Como se usa en el presente documento, “condición de crecimiento con nitrógeno suficiente” se refiere a la condición de crecimiento en la que la tierra o el medio de crecimiento contiene o recibe suficientes cantidades de nutriente de nitrógeno para sostener un crecimiento de planta sano y/o para que una planta alcance su rendimiento típico para una especie de planta particular o una cepa particular. Como se usa en el presente documento, “nutriente de nitrógeno” significa una cualquiera o cualquier mezcla de las sales de nitrato comúnmente usadas como fertilizante de nitrógeno para las plantas que incluyen, pero no se limitan a, nitrato de potasio, nitrato de calcio, nitrato de sodio, nitrato de amonio. El término amonio como se usa en el presente documento significa una cualquiera o cualquier mezcla de las sales de amonio comúnmente usadas como fertilizante de nitrógeno para las plantas, por ejemplo, nitrato de amonio, cloruro de amonio, sulfato de amonio, etc. Un experto en la materia reconocería qué constituyen tal tierra, medios y aportes de fertilizante para la mayoría de las especies de plantas. “Estrés por baja disponibilidad de nitrógeno” usado en el presente documento se refiere a una condición de crecimiento de la planta que no contiene suficiente nutriente de nitrógeno para mantener un crecimiento sano de la planta y/o para que una planta alcance su rendimiento típico bajo una condición de crecimiento con nitrógeno suficiente, y preferentemente se refiere a una condición de crecimiento con 50% o menos de los aportes de nitrógeno convencionales.

“Estrés por sombra” usado en el presente documento se refiere preferentemente a la disponibilidad limitada de luz que desencadena la respuesta de evitación de sombra en la planta. Las plantas están sometidas a estrés por sombra cuando están localizadas en la parte inferior del follaje, o en estrecha proximidad de vegetación vecina. El estrés por sombra puede agravarse cuando la densidad de plantación supera la densidad reinante promedio para una especie de planta particular. Las densidades reinantes promedio por acre de algunos otros ejemplos de plantas de cultivo en EE.UU. en el año 2000 fueron: trigo 1.000.000-1.500.000; arroz 650.000-900.000; soja 150.000-200.000, canola 260.000-350.000, girasol 17.000-23.000 y algodón 28.000-55.000 plantas por acre (Cheikh, y col., (2003), solicitud de patente de EE.UU. nº 20030101479).

Como se usa en el presente documento, el “aumento del rendimiento” de una planta transgénica de la presente invención puede evidenciarse y medirse de varias formas, que incluyen peso de prueba, número de semillas por planta, peso de la semilla, número de semillas por unidad de área (es decir, semillas, o peso de semillas, por acre), fanegas por acre, toneladas por acre, toneladas por acre, kilogramos por hectárea. Por ejemplo, el rendimiento del maíz puede medirse como la producción de granos de maíz envainado por unidad de área de producción, por

ejemplo, en fanegas por acre o toneladas métricas por hectárea, frecuentemente informadas en una base ajustada a la humedad, por ejemplo, un 15,5% de humedad. El aumento del rendimiento puede resultar de la utilización mejorada de compuestos bioquímicos clave tales como nitrógeno, fósforo e hidrato de carbono, o de respuestas mejoradas a estreses medioambientales tales como frío, calor, sequía, sal y ataque por plagas o patógenos. El ADN recombinante que mejora rasgos también puede usarse para proporcionar plantas transgénicas que tienen crecimiento y desarrollo mejorados y, por último lugar, aumento del rendimiento, como resultado de la expresión modificada de reguladores del crecimiento de las plantas o modificación del ciclo celular o rutas de fotosíntesis.

Como se usa en el presente documento, “expresión” se refiere a la transcripción de ADN para producir ARN. El ARN resultante puede ser, sin limitación, ARNm que codifica una proteína, ARN antisentido que es complementario a un ARNm que codifica una proteína, o un transcrito de ARN que comprende una combinación de regiones de genes sentido y antisentido tales como para su uso en tecnología de ARNi. La expresión como se usa en el presente documento también puede referirse a la producción de proteína codificada de ARNm.

Como se usa en el presente documento, “promotor” incluye referencia a una región de ADN en la dirección 5' del inicio de la transcripción y que participa en el reconocimiento y la unión de ARN polimerasa y otras proteínas para iniciar la transcripción. Un “promotor de planta” es un promotor que puede iniciar la transcripción en células de planta tanto si su origen es como si no una célula de planta. Promotores de plantas a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, aquellos que se obtienen de plantas, virus de plantas y bacterias que comprenden genes expresados en células de planta tales como *Agrobacterium* o *Rhizobium*. Ejemplos de promotores bajo el control del desarrollo incluyen promotores que inician preferencialmente la transcripción en ciertos tejidos tales como hojas, raíces o semillas. Tales promotores se denominan “preferidos para tejido”. Los promotores que inician la transcripción sólo en ciertos tejidos se denominan “específicos para tejido”. Un promotor específico para “tipo de célula” acciona principalmente la expresión en ciertos tipos de células en uno o más órganos, por ejemplo, células vasculares en raíces u hojas. Un promotor “inducible” o “represible” es un promotor que está bajo el control medioambiental. Ejemplos de condiciones medioambientales que pueden efectuar la transcripción por promotores inducibles incluyen condiciones anaerobias, o ciertos productos químicos o la presencia de luz. Los promotores específicos para tejido, preferidos para tejido, específicos para tipo de célula e inducibles constituyen la clase de promotores “no constitutivos”. Un promotor “constitutivo” es un promotor que es activo bajo la mayoría de las condiciones. Como se usa en el presente documento, la “orientación antisentido” incluye referencia a una secuencia de polinucleótidos que está operativamente ligada a un promotor en una orientación en la que se transcribe la hebra no codificante. La hebra no codificante es suficientemente complementaria a un producto de transcripción endógeno de forma que la traducción del producto de transcripción endógeno se inhibe frecuentemente.

Como se usa en el presente documento, “operativamente ligado” se refiere a la asociación de dos o más fragmentos de ácido nucleico en un único fragmento de ácido nucleico de manera que la función del uno está afectada por la del otro. Por ejemplo, un promotor está operativamente ligado a una secuencia codificante cuando puede afectar la expresión de esa secuencia codificante (es decir, que la secuencia codificante está bajo el control de la transcripción del promotor). Las secuencias codificantes pueden ligarse operativamente a secuencias reguladoras en orientación sentido o antisentido.

Como se usa en el presente documento, “secuencia consenso” se refiere a una secuencia de aminoácidos artificial de partes conservadas de las proteínas codificadas por genes homólogos, por ejemplo, como se ha determinado por un alineamiento CLUSTALW de secuencia de aminoácidos de proteínas homólogas.

Como se usa en el presente documento, “homólogo” se refiere a un gen relacionado con un segundo gen por ascendencia de una secuencia de ADN ancestral común. El término homólogo puede aplicarse a la relación entre genes separados por el evento de especiación (véase ortólogo) o a la relación entre genes separados por el evento de duplicación genética (véase parálogo). Los homólogos pueden ser del mismo organismo o de un organismo diferente que realiza la misma función biológica. “Ortólogos” se refieren a un conjunto de genes homólogos en diferentes especies que se desarrollaron de un gen ancestral común por especificación. Normalmente, los ortólogos retienen la misma función en el curso de la evolución; y “parálogos” se refiere a un conjunto de genes homólogos en las mismas especies que se han separado entre sí como consecuencia de duplicación genética.

El porcentaje de identidad se refiere al grado al que dos segmentos de ADN o proteína óptimamente alineados son invariantes por toda una ventana de alineamiento de componentes, por ejemplo, secuencia de nucleótidos o secuencia de aminoácidos. Una “fracción de identidad” para segmentos alineados de una secuencia de prueba y una secuencia de referencia es el número de componentes idénticos que son compartidos por secuencias de los dos segmentos alineados dividido entre el número total de componentes de secuencia en el segmento de referencia durante una ventana de alineamiento que es la más pequeña de la secuencia de prueba completa o la secuencia de referencia completa. “Porcentaje de identidad” (“% de identidad”) es las veces de la fracción de identidad. “100% de identidad con una secuencia de aminoácidos consenso” es 100 veces la fracción de identidad en una ventana de alineamiento de una secuencia de aminoácidos de una proteína de prueba óptimamente alineada con la secuencia de aminoácidos consenso de la presente invención.

Como se usa en el presente documento, “*Arabidopsis*” significa plantas de *Arabidopsis thaliana*.

Construcciones de ADN recombinante

- La presente invención proporciona construcciones de ADN recombinante que comprenden uno o más polinucleótidos desvelados en el presente documento para conferir uno o más rasgos mejorados a la planta transgénica. Tales construcciones también comprenden normalmente un promotor operativamente ligado a dicho polinucleótido para proporcionar la expresión en una planta diana. Otros componentes de construcción pueden incluir elementos reguladores adicionales tales como regiones sin traducir de 5' o 3' (tal como sitios de poliadenilación), regiones de intrones y péptidos de tránsito o señal. Tales construcciones de ADN recombinante pueden ensamblarse usando procedimientos conocidos para aquellos expertos en la materia.
- En una realización preferida, un polinucleótido de la presente invención está operativamente ligado en una construcción de ADN recombinante a un promotor funcional en una planta para proporcionar la expresión del polinucleótido en la orientación sentido de forma que se produzca un polipéptido deseado. También se proporcionan realizaciones en las que un polinucleótido está operativamente ligado a un promotor funcional en una planta para proporcionar la expresión del polinucleótido en la orientación antisentido de forma que se produzca una copia complementaria de al menos una parte de un ARNm nativo para el huésped de la planta diana.
- Las construcciones recombinantes preparadas según la presente invención también pueden incluir generalmente una región de ADN sin traducir de 3' (UTR) que normalmente contiene una secuencia de poliadenilación tras la región codificante de polinucleótidos. Ejemplos de 3' UTR útiles incluyen aquellas del gen nopalina sintasa de *Agrobacterium tumefaciens* (nos), un gen que codifica la subunidad pequeña de una ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa-oxigenasa (rbcS), y el transcrito T7 de *Agrobacterium tumefaciens*.
- Las construcciones y los vectores también pueden incluir un péptido de tránsito para elegir como diana un gen diana para un orgánulo de la planta, particularmente para un cloroplasto, leucoplasto u otro orgánulo plástido. Para descripciones del uso de péptidos de tránsito de cloroplastos véanse la patente de EE.UU. 5.188.642 y la patente de EE.UU. nº 5.728.925.
- La Tabla 1 proporciona una lista de genes que puede proporcionar ADN recombinante que se usó en una planta modelo para descubrir rasgos mejorados asociados y que puede usarse con homólogos para definir una secuencia de aminoácidos consenso para caracterizar ADN recombinante en las semillas transgénicas, plantas transgénicas, construcciones de ADN y procedimientos de la presente invención. "SEC NUC ID Nº" se refiere a una SEC ID Nº para la secuencia de ADN particular en la lista de secuencias. "SEC PÉP Nº" se refiere a una SEC ID Nº en la lista de secuencias para la secuencia de aminoácidos de una proteína relacionada con un ADN particular, "construcción_id" se refiere a un número arbitrario usado para identificar una construcción de ADN recombinante particular que comprende el ADN particular.
- "Gen" se refiere a un nombre arbitrario usado para identificar el ADN particular.
- "Orientación" se refiere a la orientación del ADN particular en una construcción de ADN recombinante con respecto al promotor.
- "Especie" se refiere al organismo del que se derivó el ADN particular.

Tabla 1

SEC NUC ID	SEC PÉP ID	construcción_id	Gen	Orientación	Especie
1	240	19867	CGPG4046	Sentido	<i>Glycine max</i>
2	241	74518	CGPG6792	Sentido	<i>Pseudomonas fluorescens</i> PfO-1
3	242	15816	CGPG2244	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
4	243	17918	CGPG2774	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
5	244	15306	CGPG1909	Antisentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
6	245	12038	CGPG1087	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
7	246	12046	CGPG1106	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
8	247	13432	CGPG1525	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
9	248	13711	CGPG1114	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
10	249	14809	CGPG692	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>

(continuación)

SEC NUC ID	SEC PÉP ID	construcción_id	Gen	Orientación	Especie
11	250	14951	CGPG1636	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
12	251	15632	CGPG1469	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
13	252	16147	CGPG2088	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
14	253	16158	CGPG2169	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
15	254	16170	CGPG2192	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
16	255	16171	CGPG2194	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
17	256	16175	CGPG2204	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
18	257	17430	CGPG2478	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
19	258	17819	CGPG2587	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
20	259	17921	CGPG2878	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
21	260	17928	CGPG2739	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
22	261	18637	CGPG3450	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
23	262	18816	CGPG2406	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
24	263	19227	CGPG3025	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
25	264	19429	CGPG3486	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
26	265	70235	CGPG96	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
27	266	72634	CGPG4855	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
28	267	72752	CGPG5532	Sentido	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
29	268	12007	CGPG1089	Antisentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
30	269	12290	CGPG977	Antisentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
31	270	12343	CGPG581	Antisentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
32	271	14348	CGPG1692	Antisentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
33	272	15708	CGPG2167	Antisentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
34	273	17615	CGPG2458	Antisentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
35	274	17622	CGPG2454	Antisentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
36	275	70714	CGPG1480	Antisentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
37	276	17925	CGPG2883	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
38	277	18541	CGPG2971	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
39	278	11425	CGPG628	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
40	279	12263	CGPG799	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
41	280	12288	CGPG811	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
42	281	12910	CGPG985	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
43	282	14335	CGPG1685	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>

(continuación)

SEC NUC ID	SEC PÉP ID	construcción_id	Gen	Orientación	Especie
44	283	17427	CGPG2475	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
45	284	19140	CGPG1758	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
46	285	19179	CGPG740	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
47	286	19251	CGPG3118	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
48	287	19443	CGPG2834	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
49	288	19607	CGPG3397	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
50	289	19915	CGPG4072	Sentido	<i>Glycine max</i>
51	290	70222	CGPG28	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
52	291	70464	CGPG3773	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
53	292	70474	CGPG3806	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
54	293	70484	CGPG3853	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
55	294	72474	CGPG4667	Sentido	<i>Glycine max</i>
56	295	13047	CGPG1324	ANTISENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
57	296	13304	CGPG1282	ANTISENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
58	297	13474	CGPG1600	ANTISENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
59	298	19252	CGPG3121	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
60	299	12612	CGPG1181	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
61	300	12926	CGPG1299	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
62	301	13230	CGPG1276	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
63	302	14235	CGPG1665	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
64	303	17305	CGPG2261	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
65	304	17470	CGPG2606	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
66	305	17718	CGPG1791	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
67	306	17904	CGPG1912	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
68	307	18280	CGPG3547	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
69	308	18287	CGPG3563	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
70	309	18501	CGPG2237	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
71	310	18877	CGPG3097	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
72	311	19531	CGPG3028	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
73	312	70405	CGPG1672	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
74	313	72136	CGPG5320	SENTIDO	<i>Glycine max</i>
75	314	72611	CGPG4812	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
76	315	12627	CGPG1003	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>

ES 2 392 332 T3

(continuación)

SEC NUC ID	SEC PÉP ID	construcción_id	Gen	Orientación	Especie
77	316	12813	CGPG825	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
78	317	14945	CGPG1776	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
79	318	15345	CGPG1504	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
80	319	15348	CGPG1514	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
81	320	16325	CGPG2195	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
82	321	16702	CGPG531	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
83	322	16836	CGPG2283	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
84	323	17002	CGPG1926	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
85	324	17012	CGPG2073	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
86	325	17017	CGPG1722	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
87	326	17344	CGPG2404	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
88	327	17426	CGPG2474	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
89	328	17655	CGPG2899	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
90	329	17656	CGPG2714	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
91	330	17906	CGPG2145	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
92	331	18278	CGPG3544	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
93	332	18822	CGPG2398	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
94	333	18881	CGPG3126	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
95	334	192133	CGPG3622	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
96	335	19239	CGPG3197	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
97	336	192477	CGPG3112	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
98	337	19460	CGPG2824	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
99	338	19512	CGPG2898	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
100	339	19533	CGPG3032	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
101	340	19603	CGPG3385	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
102	341	72126	CGPG5310	SENTIDO	<i>Glycine max</i>
103	342	72437	CGPG5068	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
104	343	72441	CGPG5079	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
105	344	72639	CGPG4861	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
106	345	14825	CGPG1883	Antisentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
107	346	17931	CGPG2890	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
108	347	18854	CGPG3524	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
109	348	12237	CGPG1206	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>

ES 2 392 332 T3

(continuación)

SEC NUC ID	SEC PÉP ID	construcción_id	Gen	Orientación	Especie
110	349	13414	CGPG1246	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
111	350	16160	CGPG2172	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
112	351	16226	CGPG1980	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
113	352	16803	CGPG2179	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
114	353	18260	CGPG3373	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
115	354	18642	CGPG3230	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
116	355	18721	CGPG3618	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
117	356	19254	CGPG3123	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
118	357	70247	CGPG34	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
119	358	70650	CGPG4337	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
120	359	11787	CGPG951	ANTISENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
120	359	12635	CGPG951	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
121	360	13641	CGPG1211	ANTISENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
122	361	14515	CGPG1115	ANTISENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
123	362	14920	CGPG2027	ANTISENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
124	363	15204	CGPG2000	ANTISENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
125	364	15216	CGPG1906	ANTISENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
125	364	19058	CGPG1906	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
126	365	15330	CGPG1237	ANTISENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
127	366	19610	CGPG3419	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
128	367	14338	CGPG1706	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
129	368	17809	CGPG2436	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
130	369	72471	CGPG4648	SENTIDO	<i>Glycine max</i>
131	370	16403	CGPG1983	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
132	371	17737	CGPG2623	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
133	372	18395	CGPG2994	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
134	373	72772	CGPG2418	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
135	374	19441	CGPG2783	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
136	375	11409	CGPG136	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
137	376	10486	CGPG137	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
138	377	12104	CGPG693	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
139	378	12258	CGPG836	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
140	379	12909	CGPG1195	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>

(continuación)

SEC NUC ID	SEC PÉP ID	construcción_id	Gen	Orientación	Especie
141	380	14310	CGPG1037	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
142	381	14317	CGPG1150	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
143	382	14709	CGPG990	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
144	383	15123	CGPG1730	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
145	384	16013	CGPG978	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
146	385	16185	CGPG2025	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
147	386	16719	CGPG1817	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
148	387	17490	CGPG2638	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
149	388	17905	CGPG2101	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
150	389	18385	CGPG3609	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
151	390	18392	CGPG2989	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
153	392	18531	CGPG3215	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
154	393	18603	CGPG3423	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
155	394	19530	CGPG3026	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
156	395	70202	CGPG3949	SENTIDO	<i>Glycine max</i>
157	396	72009	CGPG5273	SENTIDO	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
158	397	72119	CGPG5332	SENTIDO	<i>Glycine max</i>
159	398	10188	CGPG147	Antisentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
160	399	10404	CGPG25	Antisentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
161	400	11333	CGPG583	Antisentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
162	401	11719	CGPG710	Antisentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
163	402	13663	CGPG1241	Antisentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
164	403	13958	CGPG1711	Antisentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
165	404	15214	CGPG1904	Antisentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
166	405	10483	CGPG447	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
167	406	11711	CGPG466	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
168	407	11909	CGPG471	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
169	408	12216	CGPG1091	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
170	409	12236	CGPG1193	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
171	410	12256	CGPG824	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
172	411	12806	CGPG714	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
173	412	12904	CGPG204	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
174	413	13212	CGPG1384	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>

(continuación)

SEC NUC ID	SEC PÉP ID	construcción_id	Gen	Orientación	Especie
175	414	13232	CGPG1281	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
176	415	13912	CGPG1283	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
177	416	14327	CGPG1606	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
178	417	14704	CGPG1066	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
179	418	14714	CGPG1431	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
180	419	15142	CGPG1917	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
181	420	17450	CGPG2684	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
182	421	18607	CGPG3496	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
183	422	19409	CGPG2691	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
184	423	19412	CGPG2727	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
185	424	13005	CGPG724	ANTISENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
186	425	10203	CGPG272	ANTISENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
187	426	11327	CGPG551	ANTISENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
188	427	11814	CGPG1041	ANTISENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
188	427	12018	CGPG1041	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
189	428	13003	CGPG673	ANTISENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
190	429	13949	CGPG1686	ANTISENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
191	430	16416	CGPG2258	ANTISENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
192	431	16438	CGPG1847	ANTISENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
193	432	17124	CGPG2432	ANTISENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
194	433	19132	CGPG1755	ANTISENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
195	434	17922	CGPG2880	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
196	435	19719	CGPG4171	SENTIDO	<i>Glycine max</i>
197	436	17336	CGPG1732	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
197	436	14274	CGPG1732	ANTISENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
198	437	17735	CGPG2423	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
199	438	19249	CGPG3115	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
200	439	18513	CGPG3485	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
201	440	11517	CGPG224	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
202	441	12363	CGPG981	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
203	442	12922	CGPG1294	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
204	443	15360	CGPG1719	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
205	444	16028	CGPG2047	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>

(continuación)

SEC NUC ID	SEC PÉP ID	construcción_id	Gen	Orientación	Especie
206	445	16648	CGPG2504	SENTIDO	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>
207	446	16705	CGPG1005	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
208	447	16715	CGPG2273	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
209	448	17316	CGPG2146	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
210	449	17331	CGPG1708	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
211	450	17339	CGPG2461	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
212	451	17420	CGPG2465	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
213	452	17446	CGPG2728	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
214	453	17487	CGPG2633	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
215	454	17740	CGPG2605	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
216	455	17752	CGPG2831	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
217	456	18021	CGPG685	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
218	457	18245	CGPG3343	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
219	458	18617	CGPG3521	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
220	459	18734	CGPG3198	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
221	460	18823	CGPG2830	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
222	461	19222	CGPG3017	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
223	462	19430	CGPG3487	SENTIDO	<i>Arabidopsis thaliana</i>
224	463	12332	CGPG356	Antisentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
225	464	13649	CGPG1544	Antisentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
226	465	16113	CGPG2128	Antisentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
227	466	12069	CGPG1188	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
228	467	12906	CGPG313	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
229	468	13443	CGPG1233	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
230	469	14707	CGPG1141	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
231	470	15116	CGPG1509	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
232	471	16117	CGPG2234	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
233	472	16136	CGPG2144	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
234	473	19077	CGPG1808	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
235	474	19178	CGPG3683	Sentido	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
236	475	70752	CGPG4465	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
237	476	707533	CGPG4469	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>
238	477	70809	CGPG388	Sentido	<i>Arabidopsis thaliana</i>

(continuación)

SEC NUC ID	SEC PÉP ID	construcción_id	Gen	Orientación	Especie
239	478	72091	CGPG5264	Sentido	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>

ADN recombinante

ADN a modo de ejemplo para su uso en la presente invención para mejorar los rasgos en plantas se proporcionan en el presente documento como SEC ID N°: 1 a SEC ID N°: 151 y SEC ID N°: 153 a SEC ID N°: 239. Un subconjunto de ADN a modo de ejemplo incluye fragmentos de los polinucleótidos enteros desvelados que consisten en oligonucleótidos de al menos 15, preferentemente al menos 16 ó 17, más preferentemente al menos 18 ó 19, e incluso más preferentemente al menos 20 o más nucleótidos consecutivos. Tales oligonucleótidos son fragmentos de las moléculas más grandes que tienen una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEC ID N°: 1 a SEC ID N°: 151 y SEC ID N°: 153 a SEC ID N°: 239 y se usan, por ejemplo, como sondas y cebadores para la detección de los polinucleótidos de la presente invención.

También son de interés en la presente invención variantes del ADN proporcionado en el presente documento. Tales variantes pueden producirse naturalmente, que incluyen ADN de genes homólogos de la misma especie o de una diferente, o pueden ser variantes no naturales, por ejemplo, ADN sintetizado usando procedimientos de síntesis química, o generarse usando técnicas de ADN recombinante. La degeneración del código genético proporciona la posibilidad de sustituir al menos una base de la secuencia codificante de proteínas de un gen con una base diferente sin hacer que cambie la secuencia de aminoácidos del polipéptido producida a partir del gen. Por tanto, un ADN útil en la presente invención puede tener cualquier secuencia de bases que haya sido cambiada de las secuencias proporcionadas en el presente documento por sustitución según la degeneración del código genético.

Los homólogos de los genes que proporcionan ADN demostrado como útil en mejorar los rasgos en plantas modelo desveladas en el presente documento generalmente demostrarán identidad significativa con el ADN proporcionado en el presente documento. El ADN es sustancialmente idéntico a un ADN de referencia si, cuando las secuencias de los polinucleótidos están óptimamente alineadas, hay aproximadamente el 60% de equivalencia de nucleótidos; más preferentemente el 70%; más preferentemente el 80% de equivalencia; más preferentemente el 85% de equivalencia; más preferentemente el 90%; más preferentemente el 95%; y/o más preferentemente el 98% o el 99% de equivalencia con respecto a una ventana de comparación. Una ventana de comparación tiene preferentemente al menos 50-100 nucleótidos, y más preferentemente es la longitud entera del polinucleótido proporcionado en el presente documento. El alineamiento óptimo de secuencias para alinear una ventana de comparación puede realizarse por algoritmos; preferentemente por implementaciones computerizadas de estos algoritmos (por ejemplo, Wisconsin Genetics Software Package Release 7.0-10.0, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI). El polinucleótido de referencia puede ser una molécula de longitud completa o una parte de una molécula más larga. Preferencialmente, la ventana de comparación para determinar la identidad de polinucleótidos de secuencias codificantes de proteínas es la región codificante entera.

ADN recombinante

Proteínas útiles para conferir rasgos mejorados son proteínas enteras o al menos una porción suficiente de la proteína entera para conferir la actividad biológica relevante de la proteína. El término "proteína" también incluye moléculas que consisten en una o más cadenas de polipéptidos. Por tanto, una proteína útil en la presente invención puede constituir una proteína entera que tiene la actividad biológica detectada, o puede constituir una parte de una proteína oligomérica que tiene múltiples cadenas de polipéptidos. Proteínas útiles para la generación de plantas transgénicas que tienen rasgos mejorados incluyen proteínas con una secuencia de aminoácidos proporcionada en el presente documento como SEC ID N°: 240 a SEC ID N°: 390 y SEC ID N°: 392 a SEC ID N°: 478, además de homólogos de tales proteínas.

Los homólogos de las proteínas útiles en la presente invención pueden identificarse por comparación de la secuencia de aminoácidos de la proteína con secuencias de aminoácidos de proteínas de la misma fuente de planta o de fuentes de plantas diferentes, por ejemplo, manualmente o usando algoritmos de búsqueda basados en homología conocidos tales como aquellos comúnmente conocidos y denominados BLAST, FASTA y Smith-Waterman. Como se usa en el presente documento, un homólogo es una proteína del mismo organismo o de organismos diferentes que realiza la misma función biológica que el polipéptido con el que se compara. Una relación ortóloga entre dos organismos no se manifiesta necesariamente como una correspondencia uno a uno entre dos genes, debido a que un gen puede duplicarse o deleccionarse después de la separación filogenética del organismo, tal como especiación. Para una proteína dada puede no haber ortólogo o más de un ortólogo. Otros factores de implicación incluyen transcritos alternativamente cortados y empalmados del mismo gen, identificación de genes limitada, copias redundantes del mismo gen con diferentes longitudes de secuencia o secuencia corregida. Puede usarse un programa de alineamiento de secuencias local, por ejemplo BLAST, para buscar en una base de datos de secuencias para encontrar secuencias similares y usarse el valor de esperanza (valor de E) resumen para medir la similitud de bases de la secuencia. Como un éxito de proteína con el mejor valor de E para un organismo particular puede no ser necesariamente un ortólogo o el único ortólogo, en la presente invención se usa una búsqueda de

BLAST recíproco para filtrar secuencias de éxito con valores de E significativos para identificación ortóloga. El BLAST recíproco implica la búsqueda de los éxitos significativos contra una base de datos de secuencias de aminoácidos del organismo base que son similares a la secuencia de la proteína de consulta. Un éxito es un ortólogo probable cuando el mejor éxito de BLAST recíproco es la propia proteína de consulta o una proteína codificada por un gen duplicado después de especiación. Por tanto, homólogo se usa en el presente documento para describir proteína que se asume que tiene similitud funcional por inferencia de la similitud de bases de secuencia. La relación de homólogos con secuencias de aminoácidos de SEC ID N°: 479 a SEC ID N°: 12463 con las proteínas con secuencias de aminoácidos de SEC ID N°: 240 a SEC ID N°: 478 se encuentra en la Tabla 2 adjunta.

Otro aspecto de la invención comprende proteínas homólogas funcionales que se diferencian en uno o más aminoácidos de aquellos de una proteína que mejora rasgos desvelada en el presente documento como resultado de una o más de las sustituciones de aminoácidos conservativas muy conocidas, por ejemplo, valina es un sustituto conservativo para alanina y treonina es un sustituto conservativo para serina. Las sustituciones conservativas para un aminoácido dentro de la secuencia nativa pueden seleccionarse de otros miembros de una clase a la que pertenece el aminoácido que se produce naturalmente. Aminoácidos representativos dentro de estas diversas clases incluyen, pero no se limitan a: (1) aminoácidos ácidos (negativamente cargados) tales como ácido aspártico y ácido glutámico; (2) aminoácidos básicos (positivamente cargados) tales como arginina, histidina y lisina; (3) aminoácidos polares neutros tales como glicina, serina, treonina, cisteína, tirosina, asparagina y glutamina; y (4) aminoácidos (hidrófobos) no polares neutros tales como alanina, leucina, isoleucina, valina, prolina, fenilalanina, triptófano y metionina. Los sustitutos conservados para un aminoácido dentro de una secuencia de aminoácidos nativa pueden seleccionarse de otros miembros del grupo al que pertenece el aminoácido que se produce naturalmente. Por ejemplo, un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales alifáticas es glicina, alanina, valina, leucina e isoleucina; un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales de hidroxilo alifáticas es serina y treonina; un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales que contienen amida es asparagina y glutamina; un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales aromáticas es fenilalanina, tirosina y triptófano; un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales básicas es lisina, arginina e histidina; y un grupo de aminoácidos que tienen cadenas laterales que contienen azufre es cisteína y metionina. Grupos de sustitución de aminoácidos naturalmente conservativos son: valina-leucina, valina-isoleucina, fenilalanina-tirosina, lisina-arginina, alanina-valina, ácido aspártico-ácido glutámico y asparagina-glutamina. Otro aspecto de la invención comprende proteínas que se diferencian en uno o más aminoácidos de aquellos de una secuencia de proteínas descrita como resultado de delección o inserción de uno o más aminoácidos en una secuencia nativa.

Los homólogos de las proteínas que mejoran rasgos desveladas proporcionadas en el presente documento generalmente demostrarán identidad de secuencias significativa. Son de particular interés proteínas que tienen al menos el 90% de identidad de secuencias con una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 408. Por supuesto, proteínas útiles también incluyen aquellas con mayor identidad, por ejemplo, del 90% al 99% de identidad. La identidad de homólogos de proteínas se determina alineando óptimamente la secuencia de aminoácidos de un homólogo de proteína putativa con una secuencia de aminoácidos definida y calculando el porcentaje de aminoácidos idénticos y conservativamente sustituidos sobre la ventana de comparación. La ventana de comparación para determinar la identidad puede ser la secuencia de aminoácidos entera desvelada en el presente documento, por ejemplo, la secuencia completa de SEC ID N°: 408.

Los genes que son homólogos entre sí pueden agruparse en familias e incluirse en múltiples alineamientos de secuencias. Entonces puede derivarse una secuencia consenso para cada grupo. Este análisis permite la derivación de residuos o motivos conservados y específicos para clase (familia) que son funcionalmente importantes. Estos residuos y motivos conservados pueden validarse adicionalmente con estructura de proteínas 3D, si está disponible. La secuencia consenso puede usarse para definir el alcance completo de la invención, por ejemplo, para identificar proteínas con una relación homóloga. Por tanto, la presente invención contempla que los homólogos de proteínas incluyan proteínas con una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% de identidad con tales secuencias de aminoácidos consenso.

Promotores

En la bibliografía se han descrito numerosos promotores que son activos en células vegetales. Éstos incluyen promotores presentes en genomas de la planta, además de promotores de otras fuentes, que incluyen promotor de nopalina sintasa (NOS) y promotores de octopina sintasa (OCS) llevados sobre plásmidos inductores de tumor de *Agrobacterium tumefaciens*, promotores de caulimovirus tales como promotores del virus del mosaico de la coliflor o del virus del mosaico de la escrofularia. Por ejemplo, véanse las patentes de EE.UU. n° 5.858.742 y 5.322.938 que desvelan versiones del promotor constitutivo derivado del virus del mosaico de la coliflor (CaMV35S), patente de EE.UU. n° 5.378.619 que desvela un promotor 35S del virus del mosaico de la escrofularia (FMV), la patente de EE.UU. 6.437.217 que desvela un promotor RS81 del maíz, la patente de EE.UU. 5.641.876 que desvela un promotor de actina de arroz, la patente de EE.UU. 6.426.446 que desvela un promotor RS324 de maíz, la patente de EE.UU. 6.429.362 que desvela un promotor PR-1 de maíz, la patente de EE.UU. 6.232.526 que desvela un promotor A3 de maíz, la patente de EE.UU. 6.177.611 que desvela promotores de maíz constitutivos, la patente de EE.UU. 6.433.252 que desvela un promotor de oleosina L3 de maíz, la patente de EE.UU. 6.429.357 que desvela un promotor e intrón de actina 2 de arroz, la patente de EE.UU. 5.837.848 que desvela un promotor específico para la

raíz, la patente de EE.UU. 6.084.089 que desvela promotores inducibles en frío, la patente de EE.UU. 6.294.714 que desvela promotores inducibles ligeros, la patente de EE.UU. 6.140.078 que desvela promotores inducibles por sales, la patente de EE.UU. 6.252.138 que desvela promotores inducibles por patógenos, la patente de EE.UU. 6.175.060 que desvela promotores inducibles por deficiencia de fósforo, la publicación de solicitud de patente de EE.UU. 2002/0192813A1 que desvela elementos de 5', 3' y de intrón útiles en el diseño de vectores de expresión de plantas eficaces, la solicitud de patente de EE.UU. n° de serie 09/078.972 que desvela un promotor de coixina, la solicitud de patente de EE.UU. n° de serie 09/757.089 que desvela un promotor de aldolasa de cloroplastos del maíz y la patente de EE.UU. solicitud n° de serie 10/739.565 que desvela promotores inducibles por falta de agua. Estos y numerosos otros promotores que funcionan en células vegetales son conocidos para aquellos expertos en la materia y están disponibles para su uso en polinucleótidos recombinantes de la presente invención para proporcionar la expresión de genes deseados en células vegetales transgénicas.

Además, los promotores pueden alterarse para contener múltiples "secuencias potenciadoras" para ayudar a elevar la expresión génica. Tales potenciadores se conocen en la técnica. Incluyendo una secuencia potenciadora con tales construcciones, la expresión de la proteína seleccionada puede potenciarse. Estos potenciadores se encuentran frecuentemente 5' con respecto al inicio de la transcripción en un promotor que funciona en células eucariotas, pero frecuentemente pueden insertarse en la orientación directa o inversa 5' o 3' con respecto a la secuencia codificante. En algunos casos, estos elementos potenciadores de 5' son intrones. Se consideran que son particularmente útiles como potenciadores los intrones de 5' de los genes actina I de arroz y actina 2 de arroz. Ejemplos de otros potenciadores que pueden usarse según la invención incluyen elementos del promotor 35S del CaMV, genes octopina sintasa, el gen alcohol deshidrogenasa de maíz, el gen reducido 1 de maíz y promotores de plantas no eucariotas.

En algunos aspectos de la invención se prefiere que el elemento promotor en la construcción de ADN pueda provocar expresión suficiente para producir la producción de una cantidad eficaz de un polipéptido en condiciones de falta de agua. Tales promotores pueden identificarse y aislarse de la región reguladora de genes que se expresan en exceso en condiciones de falta de agua. Promotores inducibles por falta de agua específicos para su uso en la presente invención se derivan de la región reguladora de 5' de genes identificados como un gen de la proteína de choque térmico 17.5 (*HSP17.5*), un gen HVA22 (*HVA22*), un gen Rab17 y un gen ácido cinámico 4-hidroxilasa (*CA4H*) (*CA4H*) de *Zea mays*. Tales promotores inducibles por falta de agua se desvelan en la solicitud de EE.UU. n° de serie 10/739.565.

En otros aspectos de la invención se desea expresión suficiente en tejidos de semilla de planta para efectuar mejoras en la composición de la semilla. Promotores a modo de ejemplo para su uso para la modificación de la composición de la semilla incluyen promotores de genes de la semilla tales como napina (patente de EE.UU. 5.420.034), oleosina L3 de maíz (patente de EE.UU. 6.433.252), zeína Z27 (Russell y col. (1997) Transgenic Res. 6(2):157-166), globulina 1 (Belanger y col. (1991) Genetics 129:863-872), glutelina 1 (Russell (1997), arriba) y antioxidante de peroxirredoxina (*Per1*) (Stacy y col. (1996) Plant Mol Biol. 31(6):1205-1216).

En todavía más aspectos de la invención se desea la expresión preferencial en tejidos verdes de la planta. Promotores de interés para tales usos incluyen aquellos de genes tales como SSU (Fischhoff y col. (1992) Plant Mol Biol. 20:81-93), aldolasa y piruvato ortofosfato dicinasa (*PPDK*) (Taniguchi y col. (2000) Plant Cell Physiol. 41(1):42-48).

Expresión en exceso de genes

La "expresión en exceso de genes" usada en el presente documento en referencia a un polinucleótido o polipéptido indica que el nivel de expresión de una proteína diana, en una planta transgénica o en una célula huésped de la planta transgénica, supera niveles de expresión en una planta no transgénica. En una realización preferida de la presente invención, una construcción de ADN recombinante comprende el polinucleótido de interés en la orientación sentido con respecto al promotor para lograr la expresión en exceso de genes, que se identifica como tal en la Tabla 1.

Supresión de genes

La supresión de genes incluye cualquiera de los procedimientos muy conocidos para suprimir la transcripción de un gen o la acumulación del ARNm correspondiente a ese gen previniéndose así la traducción del transcrito en proteína. La supresión de genes postraducciona está mediada por la transcripción de ADN recombinante integrado para formar ARN bicatenario (ARNbc) que tiene homología con un gen elegido como diana para supresión. Esta formación de ARNbc resulta lo más comúnmente de la transcripción de una repetición invertida integrada del gen diana, y es una característica común del procedimiento de supresión de genes conocido como supresión antisentido, cosupresión y ARN interferente (ARNi). La supresión transcripcional puede mediar por un ARNbc transcrito que tiene homología con una secuencia de ADN del promotor para efectuar lo que se llama supresión del promotor *trans*.

Más particularmente, la supresión de genes postraduccionales insertando una construcción de ADN recombinante con ADN en orientación antisentido para regular la expresión génica en células vegetales se desvela en la patente de EE.UU. 5.107.065 (Shewmaker y col.) y la patente de EE.UU. 5.759.829 (Shewmaker y col.). Plantas

transgénicas transformadas usando tales construcciones de ADN en orientación antisentido para la supresión de genes pueden comprender ADN integrado dispuesto como repeticiones invertidas que resultan de la inserción de la construcción de ADN en plantas por transformación mediada por *Agrobacterium* como se desvela por Redenbaugh y col. en "Safety Assessment of Genetically Engineered Flavr Savr™ Tomato", CRC Press, Inc. (1992). Las inserciones de repeticiones invertidas pueden comprender una parte o toda la construcción de T-ADN, por ejemplo, una repetición invertida de una unidad de transcripción completa o una repetición invertida de secuencia terminadora de la transcripción. El cribado para ADN insertado que comprende elementos de repetición invertida puede mejorar la eficiencia de identificación de eventos de transformación eficaces para el silenciamiento de genes si la construcción de transformación es una construcción de ADN antisentido simple que debe insertarse en múltiples copias o una construcción de ADN de repeticiones invertidas compleja (por ejemplo, una construcción de ARNi) que puede insertarse como una única copia.

La supresión de genes postraduccionales insertando una construcción de ADN recombinante con ADN en orientación sentido para regular la expresión génica en plantas se desvela en la patente de EE.UU. 5.283.184 (Jorgensen y col.) y la patente de EE.UU. 5.231.020 (Jorgensen y col.). El T-ADN insertado que proporciona la supresión de genes en plantas transformadas con tales construcciones sentido por *Agrobacterium* está organizado predominantemente en estructuras de repetición invertida, como se desvela por Jorgensen y col., Mol. Gen. Genet., 207:471-477 (1987). Véase también Stam y col., "The Plant Journal" 12(1), 63-82 (1997) que usaron estudios de segregación para soportar el hallazgo de Jorgensen de que el silenciamiento de genes está mediado por loci de T-ADN de transgén multimérico en los que los T-ADN están dispuestos en repeticiones invertidas. El cribado para ADN insertado que comprende elementos de repetición invertida puede mejorar la eficiencia del silenciamiento de genes cuando se transforma con construcciones de ADN en orientación sentido simples. La eficiencia del silenciamiento de genes también puede mejorarse cribando para eventos de una única inserción cuando se transforma con una construcción de ARNi que contiene elementos de repeticiones invertidas.

Como se desvela por Redenbaugh y col., la supresión de genes puede conseguirse insertando en un genoma de planta ADN recombinante que transcribe ARNbc. Un inserto de ADN tal puede transcribirse en un elemento de ARN que tiene la región 3' como un ARN bicatenario. Las construcciones de ARNi también se desvelan en el documento EP 0426195 A1 (Goldbach y col. - 1991) en el que se construye ADN recombinante para la transcripción en ARNbc de horquilla para proporcionar plantas transgénicas con resistencia al virus del marchitamiento manchado del tabaco. Los ARN bicatenarios también se desvelaron en el documento WO 94/01550 (Agrawal y col.) en el que el ARN antisentido se estabilizó con un segmento 3' auto-complementario. Agrawal y col. se refirieron a la patente de EE.UU. 5.107.065 para usar tales ARN antisentido auto-estabilizados para regular la expresión génica en células vegetales; véase el documento WO 94/01550. Otros elementos formadores de horquillas bicatenarias en ARN transcrito se desvelan en el documento WO 98/05770 (Werner y col.) en el que el ARN antisentido es estabilizado por repeticiones formadoras de horquillas de nucleótidos poli(CG). Véase también la publicación de solicitud de patente de EE.UU. nº 2003/0175965 A1 (Lowe y col.) que desvela la supresión de genes una construcción de ARNi que comprende una secuencia codificante de genes precedida de las repeticiones invertidas de 5'UTR. Véase también la publicación de solicitud de patente de EE.UU. nº 2002/0048814 A1 (Oeller) en la que construcciones de ARNi se transcriben en ARN sentido o antisentido que es estabilizado por un cola de poli(T)-poli(A). Véase también la publicación de solicitud de patente de EE.UU. nº 2003/0018993 A1 (Guttersen y col.) en la que el ARN sentido o antisentido es estabilizado por una repetición invertida de la región sin traducir de 3' del gen NOS. Véase también la publicación de solicitud de patente de EE.UU. nº 2003/0036197 A1 (Glassman y col.) en la que el ARN que tiene homología con una diana es estabilizado por dos regiones de ARN complementarias.

El silenciamiento de genes también puede efectuarse transcribiendo ARN de un ADN en orientación tanto sentido como antisentido, por ejemplo, como se desvela por Shewmaker y col. en la patente de EE.UU. 5.107.065 en la que en el Ejemplo 1 un vector binario se preparó con genes *aroA* tanto sentido como antisentido. Véase también la patente de EE.UU. 6.326.193 en la que el ADN que elige como diana el gen está operativamente ligado a promotores opuestos.

El silenciamiento de genes también puede afectarse transcribiendo a partir de ADN sentido y antisentido contiguo. A este respecto véase Sijen y col., The Plant Cell, vol. 8, 2277-2294 (1996), que desvela el uso de construcciones que llevan repeticiones invertidas de un gen del virus del mosaico de caupí en plantas transgénicas para mediar en la resistencia al virus. Tales construcciones para supresión de genes postranscripcional en plantas por ARN bicatenario también se desvelan en el documento WO 99/53050 (Waterhouse y col.), el documento WO 99/49029 (Graham y col.), la solicitud de patente de EE.UU. nº 10/465.800 (Fillatti), la patente de EE.UU. 6.506.559 (Fire y col.). Véase también la solicitud de EE.UU. nº de serie 10/393.347 (Shewmaker y col.) que desvela construcciones y procedimientos para expresar simultáneamente uno o más genes recombinantes mientras que a la vez se suprimen simultáneamente uno o más genes nativos en una planta transgénica. Véase también la patente de EE.UU. 6.448.473 (Mitsky y col.) que desvela vectores de supresión de múltiples genes para su uso en plantas.

La supresión transcripcional tal como la supresión del promotor *trans* puede afectarse expresando una construcción de ADN que comprende un promotor operativamente ligado a repeticiones invertidas del ADN de promotor para un gen diana. Las construcciones útiles para tal supresión de genes mediada por la supresión del promotor *trans* se desvelan por Mette y col., The EMBO Journal, vol. 18, nº 1, pág. 241-148, 1999 y por Mette y col., The EMBO Journal, vol. 19, nº 19, pág. 5194-5201-148, 2000.

La supresión también puede lograrse por inserción de mutaciones creadas por elementos transposables que también pueden prevenir la función del gen. Por ejemplo, en muchas plantas dicotiledóneas, la transformación con el T-ADN de *Agrobacterium* puede lograrse fácilmente y pueden obtenerse rápidamente grandes números de transformantes. Por tanto, algunas especies tienen líneas con elementos transposables activos que pueden usarse eficientemente para la generación de grandes números de mutaciones de inserción, mientras que algunas otras especies carecen de tales opciones. Las plantas mutantes producidas por *Agrobacterium* o mutagénesis de transposón y que tienen expresión alterada de un polipéptido de interés pueden identificarse usando los polinucleótidos de la presente invención. Por ejemplo, puede cribarse una gran población de plantas mutadas con polinucleótidos que codifican el polipéptido de interés para detectar plantas mutadas que tienen una inserción en el gen que codifica el polipéptido de interés.

Apilamiento de genes

La presente invención también contempla que el ADN recombinante que mejora rasgos proporcionado en el presente documento pueda usarse en combinación con otro ADN recombinante para crear plantas con múltiples rasgos deseados. Las combinaciones generadas pueden incluir múltiples copias de una cualquiera o más de las construcciones de ADN recombinante.

Estas combinaciones apiladas pueden crearse mediante cualquier procedimiento que incluye, pero no se limita a, hibridación de plantas transgénicas, o múltiples transformaciones genéticas.

Procedimientos de transformación de plantas

En la técnica se conocen numerosos procedimientos para transformar células de planta con ADN recombinante y pueden usarse en la presente invención. Dos procedimientos comúnmente usados para la transformación de plantas son transformación mediada por *Agrobacterium* y bombardeo con microproyectiles. Los procedimientos de bombardeo con microproyectiles se ilustran en las patentes de EE.UU. 5.015.580 (soja); 5.550.318 (maíz); 5.538.880 (maíz); 5.914.451 (soja); 6.160.208 (maíz); 6.399.861 (maíz) y 6.153.812 (trigo) y la transformación mediada por *Agrobacterium* se describe en las patentes de EE.UU. 5.159.135 (algodón); 5.824.877 (soja); 5.591.616 (maíz); y 6.384.301 (soja). Para el sistema de transformación de plantas basado en *Agrobacterium tumefaciens*, elementos adicionales presentes en las construcciones de transformación incluirán secuencias de la frontera izquierda y derecha del T-ADN para facilitar la incorporación del polinucleótido recombinante en el genoma de la planta.

En general se prefiere introducir ADN heterólogo al azar, es decir, en una localización no específica, en el genoma de una línea de planta diana. En casos especiales puede ser útil elegir como diana la inserción de ADN heterólogo con el fin de lograr la integración específica para sitio, por ejemplo, para sustituir un gen existente en el genoma, para usar un promotor existente en el genoma de la planta o para insertar un polinucleótido recombinante en un sitio predeterminado conocido por ser activo para la expresión génica. Existen varios sistemas de recombinación específicos para sitio que son conocidos por funcionar en plantas incluyendo cre-lox como se desvela en la patente de EE.UU. 4.959.317 y FLP-FRT como se desvela en la patente de EE.UU. 5.527.695.

Los procedimientos de transformación de la presente invención se ponen preferentemente en práctica en cultivo de tejido en medios y en un entorno controlado. "Medios" se refiere a las numerosas mezclas nutritivas que se usan para cultivar células *in vitro*, es decir, fuera del organismo vivo intacto. Dianas de células receptoras incluyen, pero no se limitan a, células de meristemo, callo, embriones inmaduros y células gaméticas tales como microesporas, polen, esperma y óvulos. Se contempla que cualquier célula a partir de la cual pueda regenerarse una planta fértil es útil como célula receptora. El callo puede iniciarse a partir de fuentes de tejido que incluyen, pero no se limitan a, embriones inmaduros, meristemas apicales de plántones, microesporas y similares. Células que pueden proliferar como callo también son células receptoras para transformación genética. Los procedimientos de transformación y los materiales prácticos para producir plantas transgénicas de la presente invención, por ejemplo, diversos medios y células receptoras diana, transformación de embriones inmaduros y posterior regeneración de plantas transgénicas fértiles, se desvelan en las patentes de EE.UU. 6.194.636 y 6.232.526 y la solicitud de patente de EE.UU. nº de serie 09/757.089.

En la práctica, el ADN se introduce en sólo un pequeño porcentaje de células diana en un experimento cualquiera. Se usan genes marcadores para proporcionar un sistema eficiente para la identificación de aquellas células que son establemente transformadas recibiendo e integrando una construcción de ADN transgénica en sus genomas. Genes marcadores preferidos proporcionan marcadores selectivos que confieren resistencia a un agente selectivo tal como un antibiótico o herbicida. Células potencialmente transformadas se exponen al agente selectivo. En la población de células supervivientes serán aquellas en las que generalmente el gen que confiere resistencia se ha integrado y expresado a niveles suficientes para permitir la supervivencia de la célula. Las células pueden probarse adicionalmente para confirmar integración estable del ADN exógeno. Genes marcadores selectivos útiles incluyen aquellos que confieren resistencia a antibióticos tales como kanamicina (*nptII*), higromicina B (*aph IV*) y gentamicina (*aac3* y *aacC4*) o resistencia a herbicidas tales como glufosinato (*bar* o *pat*) y glifosato (EPSPS). Ejemplos de tales marcadores de selección se ilustran en las patentes de EE.UU. 5.550.318; 5.633.435; 5.780.708 y 6.118.047. También pueden emplearse marcadores cribables que proporcionan una capacidad para identificar visualmente

transformantes, por ejemplo, un gen que expresa una proteína coloreada o fluorescente tal como una luciferasa o proteína verde fluorescente (GFP) o un gen que expresa un gen *beta*-glucuronidasa o *uidA* (GUS) para el que se conocen diversos sustratos cromogénicos. También se contempla que combinaciones de marcadores cribables y de selección serán útiles para la identificación de células transformadas. Véase el documento WO 99/61129 que desvela el uso de una fusión de genes entre un gen marcador de selección y un gen marcador cribable, por ejemplo, un gen NPTII y un gen GFP.

Las células que sobreviven a la exposición al agente selectivo, o células que han sido puntuadas positivas en un ensayo de cribado, pueden cultivarse en medios de regeneración y permitir que maduren en plantas. Las plántulas en desarrollo pueden transferirse a mezcla de crecimiento de plantas sin tierra y aclimatarse, por ejemplo, en una cámara medioambientalmente controlada a aproximadamente el 85% de humedad relativa, 600 ppm de CO₂ y 25-250 microeinstein m⁻² s⁻¹ de luz antes de transferirse a un invernadero o cámara de crecimiento para maduración. Las plantas maduran preferentemente tanto en una cámara de crecimiento como en un invernadero. Las plantas se regeneran de aproximadamente 6 semanas a 10 meses después de identificarse un transformante, dependiendo del tejido inicial. Durante la regeneración, las células crecen dando plantas sobre medios sólidos a aproximadamente 19 a 28°C. Después de que las plantas en regeneración hayan alcanzado el estado de desarrollo de brotes y raíces, pueden transferirse a un invernadero para el crecimiento y pruebas adicionales. Las plantas pueden polinizarse usando procedimientos de cultivo de plantas convencionales conocidos para aquellos expertos en la materia y producir semilla.

Puede recuperarse progenie de las plantas transformadas y probarse para la expresión del polinucleótido recombinante exógeno. Ensayos útiles incluyen, por ejemplo, ensayos "biológicos moleculares" tales como transferencia Southern y Northern y PCR; ensayos "bioquímicos" tales como detectar la presencia de ARN, por ejemplo, ARN bicatenario, o un producto de proteína, por ejemplo, por medios inmunológicos (ELISA y transferencias Western) o por función enzimática; ensayos de partes de la planta tales como ensayos de hojas o raíces; y por tanto, analizar el fenotipo de la planta regenerada completa.

Descubrimiento de ADN recombinante que mejora rasgos

Para identificar ADN recombinante que confiere rasgos mejorados a las plantas, *Arabidopsis thaliana* se transformó con una construcción de ADN recombinante candidata y se cribó para un rasgo mejorado.

La *Arabidopsis thaliana* se usa como modelo para genética y metabolismo en plantas. La *Arabidopsis* tiene un genoma pequeño y están disponibles estudios bien documentados. Es fácil de cultivar en grandes números y también están disponibles mutantes que definen mecanismos genéticamente controlados importantes, o pueden obtenerse fácilmente. Están disponibles diversos procedimientos para introducir y expresar genes homólogos aislados (véase Koncz, y col., eds. *Methods in Arabidopsis Research*. y col. (1992), World Scientific, New Jersey, New Jersey, en "Prefacio").

Se empleó un procedimiento de cribado de dos etapas que comprendía dos pases de caracterización de rasgo para garantizar que la modificación del rasgo dependiera de la expresión del ADN recombinante, pero no debido a la localización cromosómica de la integración del transgén. Se establecieron doce líneas transgénicas independientes para cada construcción de ADN recombinante y se ensayaron para los niveles de expresión transgénica. Se usaron cinco líneas transgénicas con niveles transgénicos de alta expresión en el cribado de primer pase para evaluar la función del transgén en plantas transgénicas T2. Posteriormente, se evaluaron adicionalmente tres eventos transgénicos, que se había mostrado que tenían uno o más rasgos mejorados, en el cribado de segundo pase para confirmar la capacidad del transgén para conferir un rasgo mejorado. La siguiente Tabla 3 resume los rasgos mejorados que se han confirmado como se proporciona por una construcción de ADN recombinante.

En particular, la Tabla 3 informa

"SEC PÉP ID N°" que es la secuencia de aminoácidos de la proteína relacionada con el ADN en la construcción de ADN recombinante correspondiente a una secuencia de proteínas de una SEC ID N°. en la lista de secuencias;

"construcción_id" es un nombre arbitrario para el ADN recombinante, se describe más particularmente en la Tabla 1;

"comentario" se refiere a una descripción de la proteína diana principal obtenida de una consulta de secuencias de aminoácidos de cada SEC PÉP ID N° en la base de datos GenBank del Centro nacional de información biotecnológica (ncbi). Más particularmente, "gi" es el n° de ID de GenBank para el principal éxito de BLAST;

"descripción" se refiere a la descripción del principal éxito de BLAST;

"valor de e" proporciona el valor de esperanza para el éxito de BLAST;

"identidad" se refiere al porcentaje de residuos de aminoácidos idénticamente apareados a lo largo de la longitud de la porción de las secuencias que es alineada por BLAST entre la secuencia de interés proporcionada en el presente documento y la secuencia éxito en GenBank;

“rasgos” identifica por un código de dos letras la mejora confirmada en una planta transgénica proporcionada por el ADN recombinante. Los códigos para rasgos mejorados son:

“CK” que indica mejora de la tolerancia al frío identificada bajo un cribado de tolerancia al choque al frío;

“CS” que indica mejora de la tolerancia al frío identificada por un cribado de tolerancia a la germinación con frío;

5 “SD” que indica mejora de la tolerancia a la sequía identificada por un cribado de tolerancia al estrés por sequía;

“PEG” que indica mejora de la tolerancia al estrés osmótico identificada por un cribado de tolerancia al estrés osmótico inducido por PEG;

“HS” que indica mejora de la tolerancia al estrés por calor identificada por un cribado de la tolerancia al estrés por calor;

10 “SS” que indica mejora de la tolerancia al estrés por alta salinidad identificada por un cribado de la tolerancia al estrés por sal;

“LN” que indica mejora de la eficiencia del uso de nitrógeno identificada por un cribado de tolerancia a bajo nitrógeno;

15 “LL” que indica respuesta de evitación de la sombra atenuada identificada por un cribado de tolerancia a la sombra bajo una condición de luz tenue;

“PP” que indica crecimiento y desarrollo mejorados en fases tempranas identificados por un cribado de crecimiento y desarrollo temprano de la planta;

“SP” que indica crecimiento y desarrollo mejorados en estados tardíos identificados por un cribado de crecimiento y desarrollo tardío de la planta proporcionado en el presente documento.

Tabla 3

SEC PEP ID Nº	construcción_id	Comentario					rasgos				
		valor de e	identidad	gi	Descripción						
240	19867	2,00E-72	47	15226242	(NM_128336) proteína hipotética [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	CK	CS				
241	74518	0	100	17980436	bacteriofotocromo [<i>Pseudomonas fluorescens</i>]	DS	LN	PEG	PP	CK	CS
242	15816	1,00E-101	100	18414706	(NM_120665) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>] dbj BAB08987.1	CK					
243	17918	5,00E-78	81	15232662	(AB017071) proteína similar a dedo de cinc; proteína similar a proteína Ser/Thr cinasa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	SS	CK				
244	15306	1,00E-121	57	15227057	(NM_126342) predicha por genefinder y genscan [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	CS					
245	12038	2,00E-47	100	18413298	proteína regulada por auxina [<i>Arabidopsis thaliana</i>] gi 3068_1325 ref NP_849354.1	PP	CS				
246	12046					CS					
247	13432	1,00E-79	53	18396732	(NM_111270) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>] gb AAF05858.1	CS					
248	13711	1,00E-33	84	15232724	proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>] gi 1128068 pir T45643 proteína hipotética	CS					
249	14809	1,00E-142	100	15230177	AF488576_1 (AF488576) factor de transcripción bHLH putativo [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	CS					
250	14951	1,00E-146	100	4056434	(AC005990) Similar a la proteína OBP32pep gb U37698 de <i>Arabidopsis thaliana</i>	PP	CS				
251	15632	0	89	9758356	(AB013396) factor 4 de iniciación eucariota, proteína similar a eIF4 [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	CS					
252	16147	0	100	11890406	(AF197940) SAM:fosfoetanolamina N-metiltransferasa [<i>Arabidopsis thaliana</i>] g	CS					

(continuación)

SEC PÉP ID Nº	construcción_id	Comentario					rasgos				
		valor de e	identidad	gi	Descripción						
253	16158	1,00E-68	100	18412355	(NM_106587) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	CS					
254	16170	2,00E-82	91	15224757	(NM_127488) proteína de choque térmico pequeña putativa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	CS					
255	16171	4,00E-92	72	18401372	(NM_128284) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	CS					
256	16175	1,00E-157	85	15240715	(NM_126137) proteína putativa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	CS					
257	17430	1,00E-155	90	13878155	(AF370340) proteína transportadora de dicarboxilato mitocondrial putativa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	CS					
258	17819	1,00E-140	95	15236507	(NM_116915) proteína hipotética [<i>Arabidopsis thaliana</i>] emb CAB77971.1	SS	CS				
259	17921	1,00E-110	74	18415982	(NM_118393) similar a proteína asociada a HSP [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	CS					
260	17928	1,00E-74	100	15231105	(NM_115730) proteína similar a coactivador de la transcripción [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	PP	CS				
261	18637	1,00E-128	87	15233509	(NM_118226) proteína putativa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	CS					
262	18816	0	94	18398254	(NM_102942) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	LL	CS				
263	19227	1,00E-164	96	15219482	(NM_106009) MAP cinasa, putativa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	CS					
264	19429	0	100	15237038	(NM_118860) proteína similar a GH3 [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	CS					
265	70235	2,00E-94	100	15234243	(NM_117229) fosfolípido hidróperóxido glutatión peroxidasa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	PP	CS				

(continuación)

SEC PÉP ID N°	construcción_id	Comentario					rasgos			
		valor de e	identidad	gi	Descripción					
266	72634 '	4,00E-52	86	30699033	Proteína relacionada con GAST1 [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	CS				
267	72752	0	100	6319971	(NC_001136) proteína fosfatasa específica para fosfotirosina; Ptp1p [<i>Saccharomyces cerevisiae</i>]	PP	CS			
268	12007	1,00E-119	76	15236117	(NM_118746) proteína sin caracterizar [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	HS				
269	12290	5,00E-66	92	18396460	(NM_111186) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	HS				
270	12343	1,00E-111	61	18414724	(NM_120571) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>] 9b AAFG1902.1 AF208051_1 (AF208051) proteína similar a proteína de choque térmico pequeña	HS				
271	14348	0	100	15234254	(NM_118912) proteína putativa [<i>Arabidopsis thaliana</i>] pir T05878 isp4 homólogo de proteína T29A15.220	HS				
272	15708	7,00E-71	87	18394214	(NM_101391) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	HS				
273	17615	1,00E-108	85	18414711	(NM_120567) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	CS	HS			
274	17622	0	93	15238837	(NM_121852) proteína putativa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	HS				
275	70714	0	94	7446439	proteína cinasa específica para serina/treonina probable (EC 2.7.1.-) F1715.140 - <i>Arabidopsis thaliana</i> emb CAA19877.1 (AL031032) proteína similar a proteína cinasa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	HS				
276	17925	1,00E-157	82	18405518	(NM_129646) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>] pir T00747 proteína RHC1a de dedo RING-H2	HS	CK			
277	18541	1,00E-128	83	15237100	(NM_119735) proteína hipotética [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	HS	CS			

(continuación)

SEC PÉP ID N°	construcción_id	Comentario					rasgos				
		valor de e	identidad	gi	Descripción						
278	11425	1,00E-155	100	18405364	(AB024028) subunidad beta del proteasoma 20S; endopeptidasa multicatalítica [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	HS					
279	12263	9,00E-39	100	15241279	proteína relacionada con dedo de cinc pequeña [<i>Arabidopsis thaliana</i>] gi 12230183 sp Q9XGY4 IM08_AR_ATH Subunidad Tim8 de translocasa de la membrana interna de importación mitocondria	HS					
280	12288	0	97	7488126	AAB01678.1 (U27590) Proteína de transporte de Fe(II) [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	HS					
281	12910	0	90	17065456	(AY062804) Proteína específica para A6 anther [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	HS					
282	14335	0	93	15229692	(NM_111953) desaturasa de ácidos grasos omega 3, precursor de cloroplastos [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	LL	HS				
283	17427	0	100	13878127	(AF370326) 2-nitropropano dioxigenasa putativa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	HS					
284	19140	0	100	15223458	(NM_104489) proteína de unión a ADN de SAR, putativa [<i>Arabidopsis thaliana</i>] gi AAF02835.1 AC009894_6 (AC009894) proteína nucleolar [<i>Arabidopsis thaliana</i>] gi AAG40838.1 AF302492_1 (AF302492) Proteína similar a NOP56 [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	HS					
285	19179	7,00E-97	92	18390408	(NM_100335) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>] gi AAB0630.1 (AC002376) Fuerte similitud con proteína de membrana inducida por ABA de Triticum (gi U80037)	PP	SS	HS			
286	19251	0	100	21553584	(AY085451) 3-isopropilmalato deshidrogenasa putativa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	HS					

(continuación)

SEC PÉP ID N°	construcción_id	Comentario					rasgos				
		valor de e	identidad	gi	Descripción						
287	19443	1,00E-171	100	15220490	(NM_102700) proteína de dedo de cinc, putativa [Arabidopsis thaliana] gb AAG51745.1 AC08667_24 (AC068667) proteína de dedo de cinc, putativa; 86473-88078 [Arabidopsis thaliana]	HS					
288	19607	0	90	15239867	(NM_124313) xilosidasa [Arabidopsis thaliana]	HS					
289	19915	2,00E-87	50	15229221	(NM_111278) proteína similar a NAM (no meristemo apical) [Arabidopsis thaliana]	SP	HS				
290	70222	0	97	15240523	(NM_124341) aminoácido permeasa 6 (emb CAA65051.1) [Arabidopsis thaliana]	DS	PP	HS			
291	70464	1,00E-106	92	15233481	(NM_118221) proteína putativa [Arabidopsis thaliana]	HS					
292	70474	1,00E-148	99	20127049	(AF488587) factor de transcripción bHLH putativo [Arabidopsis thaliana]	HS					
293	70484	0	93	18418491	(NM_119632) proteína putativa [Arabidopsis thaliana]	CS	PP	HS			
294	72474	1,00E-129	81	14150732	(AF374475) proteína de respuesta inducida hipersensible [Oryza sativa]	PP	HS				
295	13047	1,00E-170	86	15237573	(NM_123481) proteína similar a purina permeasa [Arabidopsis thaliana] dbj BAB09718.1 (AB010072) proteína similar a purina permeasa [Arabidopsis thaliana]	LL					
296	13304	0	92	15227905	(NM_127337) proteína 12 asociada a senescencia putativa [Arabidopsis thaliana]	LL					
297	13474	0	97	2318131	(AF014824) histona desacetilasa [Arabidopsis thaliana]	LL					
298	19252	3,00E-85	100	18397475	(NM_111486) proteína fosfatasa de especificidad dual putativa [Arabidopsis thaliana]	PP	LL	SS	HS	CS	
299	12612	7,00E-84	67	18397426	(NM_111472) proteína expresada [Arabidopsis thaliana]	LL					

(continuación)

SEC PÉP ID N°	construcción_id	Comentario					rasgos				
		valor de e	identidad	gi	Descripción						
300	12926	2,00E-08	63	18407064	proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>] gi[25408990]pir	LL					
301	13230	3,00E-68	83	15233017	(NM_111160) proteína desconocida [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	LL					
302	14235	1,00E-142	82	18402650	(NM_103835) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	LL					
303	17305	0	100	15222179	(NM_100550) cinasa de azúcar, putativa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	LL					
304	17470	1,00E-138	76	15219110	AAD17313.1 (AF123310) proteína NAM de dominio NAC [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	LL					
305	17718	2,00E-91	91	15228362	(NM_114694) proteína putativa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	LL					
306	17904	0	97	18399578	(NM_112070) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	LL					
307	18280	0	97	18398767	AAM66940.1 (AY088617) similar a proteína inducible por sal asociada a membrana [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	DS	LL				
308	18287	1,00E-148	100	15223439	(NM_100045) proteína de unión a polifosfoinositida, putativa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	LL					
309	18501	0	94	18418838	(NM_121863) proteína putativa [<i>Arabidopsis thaliana</i>] gb AAG35778.1 AF280057.1 (AF280057) tonneau 2 [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	LL					
310	18877	1,00E-85	100	18408502	(NM_105311) proteína relacionada con calmodulina [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	LL					
311	19531	0	98	15241970	(NM_125674) 1-desoxi-D-xilulosa 5-fosfato reductoisomerasa (DXR) [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	LL					
312	70405	0	85	18390592	(NM_100475) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	ss	LL				

(continuación)

SEC PÉP ID N°	construcción_id	Comentario									
		valor de e	identidad	gi	Descripción		LL				rasgos
313	72136	2,00E-37	66	123379	Proteína similar a HMG1/2 (proteína SB11) gi 99914 p J S22309 proteína HMG-1 del grupo de alta movilidad - soja gi 18645 emb CAA41200.1 gen de proteína similar a HMG-1 [<i>Glycine max</i>]		LL				
314	72611	1,00E-102	82	6721504	(AP001072) proteína hipotética [<i>Oryza sativa</i> (grupo de cultivar japónica)]		LL				
315	12627	0	100	15236663	(NM_118524) proteína similar a UDPglucosa 4-epimerasa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		LN				
316	12813	0	96	2454184	(U80186) subunidad beta de piruvato deshidrogenasa E1 [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		LN				
317	14945	1,00E-122	92	18400517	(NM_112338) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>] dbj BAB02642.1 (AP002061) Proteína similar a MtN3		LN				
318	15345	0	97	15237392	(NM_123987) ornitina aminotransferasa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		LN				
319	15348	0	81	18414239	(NM_117530) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		LN				
320	16325	1,00E-105	100	15225174	(NM_128763) alanina acetil transferasa putativa [<i>Arabidopsis thaliana</i>] gb AAD15401.1		LN				
321	16702	0	77	18408943	(NM_105480) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>] sp Q9M647 AR1_ARATH proteína 1 de resistencia a IAA-alanina		LN				
322	16836	0	100	11692854	AF327534.1 (AF327534) adenosin trifosfatasa putativa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		LN				
323	17002	1,00E-138	56	18414140	(NM_117486) Proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>] gb AAK68800.1 (AY042860) Proteína desconocida [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		LN				
324	17012	3,00E-79	100	18398187	(NM_127222) factor 5 despolimerizante de actina [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		LN				

(continuación)

SEC PÉP ID N°	construcción_id	Comentario						rasgos				
		valor de e	identidad	gi	Descripción							
325	17017	1,00E-155	86	11358585	Arabidopsis thaliana similar a la proteína de membrana de la envoltura nuclear	LN						
326	17344	3,00E-49	100	18424201	Familia SKP1 [Arabidopsis thaliana] gi 9759236 dbj BABO9760.1 contiene similitud con el id del gen elongina C: MNC17.5 [Arabidopsis thaliana] gi 15028385 gb AAK76669.1 proteína elongina putativa]	PP	LN					
327	17426	0	95	15238801	(NM_124151) precursor de farnesil difosfato sintasa (gb AAB49290.1) [Arabidopsis thaliana]	LN						
328	17655	1,00E-129	86	15227472	(NM_129758) proteína de dedo de cinc tipo C2H2 putativa [Arabidopsis thaliana]	LN						
329	17656	1,00E-135	74	15233081	(NM_115995) proteína de unión a ADN putativa [Arabidopsis thaliana]	LN						
330	17906	1,00E-129	100	18378887	(NM_100065) proteína expresada [Arabidopsis thaliana]	PP	LN					
331	18278	0	95	15220147	(NM_103617) Ciclina, putativa [Arabidopsis thaliana]	LN						
332	18822	0	92	15232759	(NM_111813) proteína cinasa putativa [Arabidopsis thaliana]	LN						
333	18881	0	100	18401029	(NM_112485) L-asparaginasa putativa [Arabidopsis thaliana]	LN						
334	19213	2,00E-70	91	18408726	(NM_105394) proteína expresada [Arabidopsis thaliana]	LN						
335	19239	1,00E-59	100	15235876	[Arabidopsis thaliana] relacionada con la subunidad de ARN polimerasa dirigida contra ADN gi 25313101 pir A85078	LN						
336	19247	1,00E-81	53	9711883	(AP002524) proteína hipotética-similar al cromosoma 3L de Drosophila melanogaster, CG10171 producto génico [Oryza sativa (grupo de cultivar de japónica)]	LN						

(continuación)

SEC PÉP ID N°	construcción_id	Comentario					rasgos				
		valor de e	identidad	gi	Descripción						
337	19460	1,00E-146	80	15238816	(NM_121850) [Arabidopsis thaliana] similar a la proteína de unión a ADN de dominio AP2	LN					
338	19512	0	85	15237502	(NM_124046) [Arabidopsis thaliana] similar a la proteína bHLH	LN					
339	19533	0	99	18395911	(NM_102409) proteína expresada [Arabidopsis thaliana]	LN					
340	19603	0	87	18403383	(NM_113143) proteína expresada [Arabidopsis thaliana] dbj BAB01784.1 (AB022215) glucoproteína rica en hidroxiprolina [Arabidopsis thaliana]	LN					
341	72126	5,00E-78	53	12005328	(AF239956) desconocida [Hevea brasiliensis]	LN					
342	72437	8,00E-89	92	11994756	(AP001313) [Arabidopsis thaliana] similar a la proteína kinetochore (similar a Skp1p)	LN					
343	72441	5,00E-95	84	15218602	(NM_100157) proteína L19 ribosómica, putativa [Arabidopsis thaliana]	LN					
344	72639	2,00E-73	91	18403896	(NM_104101) proteína expresada [Arabidopsis thaliana]	LN					
345	14825	0	93	15242814	(NM_120445) proteína similar a proteína cinasa [Arabidopsis thaliana]	PEG					
346	17931	1,00E-136	68	15242003	(NM_125688) [Arabidopsis thaliana] similar a proteína de dedo de cinc Dof	PEG	CS				
347	18854	1,00E-164	79	18423918	(NM_125077) proteína de ensamblaje de nucleosomas [Arabidopsis thaliana]	PEG	HS				
348	12237	1,00E-21	76	18398176	proteína expresada [Arabidopsis thaliana] gi 12322743 gb AA51367.1 ACO_12562_28	PEG					
349	13414	2,00E-69	92	12324443	(AC012329) proteína desconocida; 50647-51606 [Arabidopsis thaliana]	PEG					
350	16160	1,00E-176	87	18415888	(NM_118352) proteína putativa [Arabidopsis thaliana]	PEG					

(continuación)

SEC PÉP ID N°	construcción_id	Comentario									
		valor de e	identidad	gi	Descripción		HS	PE G		rasgos	
351	16226	1,00E-138	96	9294682	(AP001305) contiene similitud con el gen_id: MHC9.3 mediador en la regulacion de la transcripción de ARN polimerasa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		HS				
352	16803	1,00E-146	90	18394201	(NM_101382) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>] gb AAD39643.1 AC007591_8 (AC007591) Contiene un dominio de unión a PF 00175 oxidoreductasa FAD/NADH.		PEG				
353	18260	0	100	15219795	(NM_100349) canal de K+ putativo, subunidad beta [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		PEG				
354	18642	2,00E-68	71	15235819	(NM_118411) proteína predicha [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		PP	PEG			
355	18721	3,00E-21	53	18408611	proteína rica en glicina [<i>Arabidopsis thaliana</i>] gi 12597766 gb AA G60079.1 AC0 13288_13		PEG				
356	19254	0	96	18398480	(NM_111769) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		PEG				
357	70247	0	95	15238559	(NM_122954) precursor de glutamato-amoniaco ligasa (EC 6.3.1.2), cloroplasto (done lambdaAtgsl1) (pir S18600) [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		CS	DS	HS	PP PEG	
358	70650	1,00E-83	57	18399283	(NM_127582) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		PP	PEG			
359	12635	0	97	15231953	(NM_111700) hipocotilo no fototrópico putativo [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		HS				
359	11787	0	97	15231953	(NM_111700) hipocotilo no fototrópico putativo [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		PP				
360	13641	1,00E-42	87	15218189	[<i>Arabidopsis thaliana</i>] relacionada con la cadena ligera de dineína gi 25405535 pir E96562		PP				

(continuación)

SEC PEP ID Nº	construcción_id	Comentario					rasgos				
		valor de e	identidad	gi	Descripción						
361	14515	0	71	15128395	(AP003255) contiene EST AU100655(C11462), C26007(C114 62)~similar al cromosoma 3 de <i>Arabidopsis thaliana</i> , F24B22,150-proteína desconocida [<i>Oryza sativa</i> (grupo de cultivar de japónica)]	PP					
362	14920	0	100	4239819	(AB010875) PHR1 [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	PP					
363	15204	0	96	15230379	(NM_112829) tirosina fosfatasa putativa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	PP					
364	19058	0	96	18396298	(NM_102496) proteína expresada (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	LN					
364	15216	0	96	18396298	(NM_102496) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	PP					
365	15330	5,00E-68	59	18400296	(NM_112272) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	PP					
366	19610	0	100	18409509	(NM_115079) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	PP	CS				
367	14338	0	100	15222967	(NM_103926) esteroide delta7 reductasa [<i>Arabidopsis thaliana</i>] sp	PP	HS	CS			
368	17809	0	100	15242240	(NM_124576) proteína similar a sorbitol deshidrogenasa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	PP	HS				
369	72471	3,00E-83	52	18395821	(NM_111011) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	DS	PP	HS			
370	16403	1,00E-176	73	15237042	(NM_117178) proteína similar a 98b [<i>Arabidopsis thaliana</i>] p	PP	LL	LN			
371	17737	0	86	15240924	(NM_122624) [<i>Arabidopsis thaliana</i>] similar a proteína de dedo de cinc RING-H2	PP	LN				
372	18395	0	84	18401775	(NM_128415) factor de transcripción del dominio AP2 putativo [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	SS	PP	LN			

(continuación)

SEC PÉP ID N°	construcción_id	Comentario					rasgos			
		valor de e	identidad	gi	Descripción	HS	SP	PP	LN	
373	72772	0	100	15226228	(NM_128328) citocromo P450 putativo [Arabidopsis thaliana]					
374	19441	0	85	9294477	(AB018114) [Arabidopsis thaliana] similar a proteína de dedo RING	PP	PEG			
375	10486	1,00E-99	100	15237535	(NM_120465) Flor 1 terminal (TFL1) [Arabidopsis thaliana]	PP				
376	11409	1,00E-133	100	68888	proteína GL1 de diferenciación de <i>Trichoma</i> - <i>Arabidopsis thaliana</i>	CS	LN	ss	PP	
377	12104	1,00E-132	92	15230178	AF488577_1 (AF488577) factor de transcripción bHLH putativo [Arabidopsis thaliana]	PP				
378	12258	1,00E-22	59	21554390	arabinogalactano-proteína [Arabidopsis thaliana]	PP				
379	12909	0	100	18398696	(NM_111831) proteína expresada [Arabidopsis thaliana]	PP				
380	14310	0	96	15226784	(NM_129655) proteína desconocida [Arabidopsis thaliana]	PP				
381	14317	0	100	18395560	(NM_126399) proteína expresada [Arabidopsis thaliana]	PP				
382	14709	0	91	15219676	(NM_100303) beta-cetoacil-CoA sintasa putativa [Arabidopsis thaliana] pirIT00951 3-oxoacil-[acil-proteína transportadora]sintasa probable (EC2.3.1.41) F20D22.1	PP				
383	15123	0	97	15238451	(NM_120596) proteína putativa [Arabidopsis thaliana]	PP				
384	16013	4,00E-91	85	15241799	(NM_125629) [Arabidopsis thaliana] similar a proteína relacionada con la maduración	PP				
385	16185	0	95	18420375	(NM_120069) cisteína proteinasa RD19A [Arabidopsis thaliana]	PP				
386	16719	0	100	18401703	(NM_103632) proteína expresada [Arabidopsis thaliana]	PP				

(continuación)

SEC PÉP ID Nº	construcción_id	Comentario									
		valor de e	identidad	gi	Descripción						rasgos
387	17490	8,00E-93	92	18405248	(NM_104392) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>]					PP	
388	17905	8,00E-75	69	18404002	(NM_113306) proteína de dedo de PHD, putativa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]					PP	
389	18385	1,00E-117	100	15223626	(NM_104559) proteína de la membrana integral, putativa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]					PP	
390	18392	0	95	15227193	(NM_127194) factor de transcripción de homeodominio putativo [<i>Arabidopsis thaliana</i>]					SS	PP
392	18531	1,00E-142	100	15242792	(NM_125746) proteína putativa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]					PP	
393	18603	0	94	18415840	(NM_118332) proteína similar a alcohol deshidrogenasa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]					PP	
394	19530	0	96	15242217	(NM_122138) proteína similar a Ruv ADN-helicasa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]					PP	
395	70202	0	61	15241293	(NM_121408) proteína putativa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]					HS	PP
396	72009	0	91	6319543	(NC_001134) Proteína de transporte de aminoácidos para valina, leucina, isoleucina y tirosina; Tat1p [<i>Saccharomyces cerevisiae</i>]					PP	
397	72119	3,00E-70	57	126078	PROTEINA D-34 ABUNDANTE DURANTE LA EMBRIOGÉNESIS TARDÍA (LEA D-34)					PP	
398	10188	0	92	15228011	(NM_129846) citocromo P450 putativo [<i>Arabidopsis thaliana</i>]					DS	
399	10404	1,00E-151	94	99713	Proteína homeolítica Agamous - <i>Arabidopsis thaliana</i>					DS	
400	11333	1,00E-145	100	7207994	(AF083220) antígeno nuclear celular proliferante [<i>Arabidopsis thaliana</i>]					DS	
401	11719	0	87	15240257	(NM_126126) Proteína similar a ciclina D3 [<i>Arabidopsis thaliana</i>]					DS	

(continuación)

SEC PÉP ID N°	construcción_id	Comentario					rasgos				
		valor de e	identidad	gi	Descripción						
402	13663	1,00E-152	94	15227497	(NM_129769) proteína desconocida [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	DS					
403	13958	0	96	15222885	(NM_101226) aminoalcoholfosfotransferasa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	SP	DS				
404	15214	0	92	15223772	(NM_106341) Proteína de la familia Tub, putativa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	DS					
405	10483	2,00E-86	100	15223944	(NM_100757) superoxidas dismutasa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	SP	DS				
406	11711	0	100	15234217	(NM_119505) 2-deshidro-3-desoxifosheptonato aldolasa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	DS					
407	11909	1,00E-126	88	99735	Precursor de L-ascorbato peroxidasa (EC 1.11.1.11) - <i>Arabidopsis thaliana</i> (fragmento)	DS					
408	12216	0	100	15236949	(NM_118837) proteína putativa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	DS					
409	12236	2,00E-55	100	15231278	[<i>Arabidopsis thaliana</i>] relacionada con proteína específica del polen	DS					
410	12256	0	100	2317731	(AF013628) polipéptido-2 reversiblemente glucosilado [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	DS					
411	12806	1,00E-157	86	15235640	(NM_119926) proteína putativa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	DS					
412	12904	0	96	15239631	BAA97512.1 (AB026634) Proteína similar a la proteína de 3'(2'), 5'-bisfosfato nucleotidasa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	SP	DS				
413	13212	4,00E-74	93	15236917	(AL161566) proteína putativa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	DS					
414	13232	5,00E-30	60	15223263	proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>] gi 7485996 pir T00711	DS					
415	13912	9,00E-68	100	18406846	064644 SP18_ARATH Polipéptido asociado a Sin3 probable [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	DS					

(continuación)

SEC PÉP ID Nº	construcción_id	Comentario									
		valor de e	identidad	gi	Descripción		DS				rasgos
416	14327	0	92	15221444	(NM_102795) proteína de unión a GTP putativa [Arabidopsis thaliana]		DS				
417	14704	3,00E-71	46	17228240	(NC_003272) proteína hipotética [Nostoc sp. PCC 7120]		DS				
418	14714	0	94	15219541	(NM_106032) 3 similar a insensible a etileno (EIL3) [Arabidopsis thaliana]		DS				
419	15142	0	74	15235217	(NM_118107) proteína putativa [Arabidopsis thaliana]		SP	DS			
420	17450	1,00E-169	100	15232066	AAF26152.1 AC008261_9 (AC008261) proteína de caja homeótica-cremallera de leucina putativa, HAT7 [Arabidopsis thaliana]		DS				
421	18607	1,00E-151	94	15221373	(NM_105503) factor de transcripción putativo [Arabidopsis thaliana]		DS				
422	19409	0	73	15241667	(NM_120281) proteína de homeodominio putativo [Arabidopsis thaliana]		DS				
423	19412	0	96	15228826	(NM_116132) proteína putativa [Arabidopsis thaliana]		DS				
424	13005	0	99	15239405	(NM_122447) ciclina 3a [Arabidopsis thaliana] gb AAC98445.1 (AC006258) ciclina 3a [Arabidopsis thaliana]		SP	SS	PEG		
425	10203	0	81	18405485	(NM_104444) proteína expresada [Arabidopsis thaliana]		SP				
426	11327	0	92	12643807	Subunidad alfa de la proteína farnesiltransferasa (subunidad alfa de CAAX farnesiltransferasa) (proteínas RAS preniltransferasa alfa) (FTasa-alfa)[Arabidopsis thaliana]		SP				
427	12018	1,00E-175	96	18404664	(NM_129374) proteína expresada [Arabidopsis thaliana]		LL				
427	11814	1,00E-175	96	18404664	(NM_129374) proteína expresada [Arabidopsis thaliana]		SP				

(continuación)

SEC PÉP ID N°	construcción_id	Comentario					rasgos				
		valor de e	identidad	gi	Descripción		SP				
428	13003	1,00E-169	85	18394319	(NM_101474) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		SP				
429	13949	1,00E-160	85	18399097	(NM_103124) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		SP				
430	16416	1,00E-161	94	15236283	(NM_116570) componente de importación de la proteína de cloroplastos putativa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		SP				
431	16438	1,00E-167	78	18403775	(AC004667) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>] gb AAM62820.1 (AY085599) similar a la proteína Glo3 de dedo de cinc [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		SP				
432	17124	0	100	15221491	(NM_104934) similar a monooxygenasa que contiene flavina (sp P36366); similar a EST gb R30018, gb H36886, gb N37822 y gb T88100 [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		SP				
433	19132	0	92	18396094	(NM_111084) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		SP				
434	17922	1,00E-134	83	7485939	AAC13593.1 (AF058914) contiene similitud con la reparación del daño de ADN de <i>Arabidopsis thaliana</i> /proteína DRT111 de resistencia a tolerancia (SW:P42698)		LL	SP	CS		
435	19719	1,00E-141	72	6692816	(AB036735) alcohol alílico deshidrogenasa [Nicotiana tabacum]		PEG	SP	HS		
436	14274	8,00E-90	100	18407428	(NM_130339) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		SP				
436	17336	8,00E-90	100	18407428	(NM_130339) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		SP	LL			
437	17735	1,00E-108	91	18404601	(NM_129353) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		SP	LL			
438	19249	5,00E-43	100	21553354	proteína 7 de unión a ARN rico en glicina [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		PP	SP	LN		

(continuación)

SEC PÉP ID nº	construcción_id	Comentario									
		valor de e	identidad	gi	Descripción		SP	PP	SS	rasgos	
439	18513	0	96	15226492	(NM_130274) proteína putativa cinasa [Arabidopsis thaliana] pir T02181 homólogo F14M4.1.1 de proteína cinasa		SP				
440	11517	1,00E-153	85	18412044	(NM_106509) proteína expresada [Arabidopsis thaliana]		SP				
441	12363	0	100	15242458	(NM_123934) proteína similar a lipasa/hidrolasa con motivos GDSL [Arabidopsis thaliana]		SP				
442	12922	7,00E-81	100	18403216	(NM_128881) proteína expresada [Arabidopsis thaliana]		SP				
443	15360	1,00E-152	89	18398108	(NM_111674) proteína expresada [Arabidopsis thaliana]		SP				
444	16028	0	100	15232435	(NM_115274) proteína similar al transporte de péptidos [Arabidopsis thaliana]		SP				
445	16648	1,00E-134	100	15891409	NP_534027.1 (NC_003305) 3-oxoacil-(acil-proteína transportadora) reductasa [cepa de Agrobacterium tumefaciens C58 (U. Washington)]		SP				
446	16705	0	95	15236458	(NM_116899) proteína similar a nodulina [Arabidopsis thaliana]		SP				
447	16715	0	96	15238198	(NM_120537) proteína putativa (Arabidopsis thaliana)		SP				
448	17316	1,00E-124	95	18378907	(NM_100079) proteína expresada [Arabidopsis thaliana]		SP				
449	17331	0	85	15220100	(NM_106680) transportador de sulfato putativo [Arabidopsis thaliana]		SP				
450	17339	2,00E-79	100	15228208	(NM_114633) proteína putativa [Arabidopsis thaliana]		SP				
451	17420	1,00E-124	94	15229782	(NM_114248) proteína similar a glutatión transferasa [Arabidopsis thaliana]		SP				

(continuación)

SEC PEP ID Nº	construcción_id	Comentario						rasgos				
		valor de e	identidad	gi	Descripción							
452	17446	1,00E-144	88	15230344	(NM_115620) proteína similar a factor de transcripción AP2 [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		SP					
453	17487	1,00E-71	78	15218649	(NM_102603) factor de unión a elementos sensibles a etileno, putativo [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		SP					
454	17740	0	97	15232593	(NM_114527) proteína similar a espantapájaros [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		SP					
455	17752	1,00E-176	94	9755372	(AC000107) F17F8.3 [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		SP					
456	18021	0	96	7262677	(AC012188) Contiene similitud con proteína B relacionada con MYB de Gallus gallus g [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		SP					
457	18245	1,00E-168	86	15239503	(NM_122484) Similar a factor de transcripción GATA [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		SP					
458	18617	3,00E-69	94	18424873	(NM_125879) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		SP					
459	18734	0	96	15237253	(NM_121609) Similar a proteína de resistencia a UVB [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		SP					
460	18823	0	82	15222227	AAM62510.11 (AY085278) proteína BELL1.1 de homeodominio, putativa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		SP					
461	19222	0	100	18390636	(NM_100509) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		PP	SP				
462	19430	0	95	18405149	(NM_129533) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		SP					
463	12332	1,00E-113	84	15221408	(NM_106142) activador de la transcripción relacionado con myb, putativo [<i>Arabidopsis thaliana</i>]		SS					
464	13649	1,00E-127	92	11281134	proteína hipotética F9G14.50 - <i>Arabidopsis thaliana</i>		SS					

(continuación)

SEC PÉP ID N°	construcción_id	Comentario					rasgos				
		valor de e	identidad	gi	Descripción						
465	16113	0	97	15217485	AAD18098.1 (AC006416) Idéntica al gen gb[Y10557 g5bf de proteína de unión a ARN putativo de <i>Arabidopsis thaliana</i> [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	SS					
466	12069	1,00E-63	100	18410081	(NM_105902) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	SS					
467	12906	0	98	5915825	Citocromo P450 71B2 dbj BAA28537.1 (D78605) citocromo P450 monooxygenasa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	SS					
468	13443	1,00E-111	100	18409105	(NM_114908) proteína expresada [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	SS					
469	14707	0	96	13122288	(AB047808) Proteína similar a proteasa I (pfl) [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	SS					
470	15116	1,00E-167	100	15242465	(NM_121002) Proteína similar a pirofosfatasa inorgánica [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	SS					
471	16117	1,00E-90	78	15227349	(NM_129704) Proteína similar a calmodulina [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	SS					
472	16136	1,00E-115	92	15222919	(NM_101236) proteína desconocida [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	ss					
473	19077	8,00E-98	70	15221874	(NM_101737) proteína hipotética [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	HS	PP	SS			
474	19178	0	95	6321456	(NC_001139) gamma-aminobutirato (GABA) transaminasa (4-aminobutirato aminotransferasa); Uga1p [<i>Saccharomyces cerevisiae</i>]	CK	HS	PE G	PP	SS	
475	70752	4,00E-46	100	15224299	[<i>Arabidopsis thaliana</i>] relacionada con inhibidor de tripsina gi 3287862 sp O22867 IT15_ARAT H	SS					
476	70753	4,00E-86	100	15231204	(NM_112176) Proteína ADNJ, putativa [<i>Arabidopsis thaliana</i>]	SS					

(continuación)

SEC PÉP ID N°	construcción_id	Comentario									
		valor de e	identidad	gi	Descripción		LL	PP	ss		
477	70809	6,00E-70	48	20503004	(AC098693) Proteína hipotética [<i>Oryza sativa</i> (grupo de cultivar de japónica)]		LL	PP	ss		
478	72091	1,00E-177	94	6322655	(NC_001143) Interactúa con y puede ser un regulador positivo de GLC7 que codifica proteína fosfatasa de tipo1; Sds22p [<i>Saccharomyces cerevisiae</i>]		LL	LN	SS		

Cribados de mejora de rasgos

SD - Mejora de la tolerancia a la sequía identificada por cribado de tolerancia al estrés por sequía de la tierra: la sequía o las condiciones de falta de agua imponen principalmente estrés osmótico en plantas. Las plantas son particularmente vulnerables a la sequía durante el estado de floración. La condición de sequía en el procedimiento de cribado desvelado en el Ejemplo 1B empezó en el momento de la floración y se mantuvo hasta el final de la cosecha. La presente invención proporciona ADN recombinante que puede mejorar la tasa de supervivencia de la planta bajo tal condición de sequía sostenida. ARN recombinante a modo de ejemplo para conferir tal tolerancia a la sequía se identifica como tal en la Tabla 3. Tal ARN recombinante puede encontrar uso particular en generar plantas transgénicas que son tolerantes a la condición de sequía impuesta durante el momento de la floración y en otros estados del ciclo vital de la planta. Como se demuestra a partir del cribado de la planta modelo, en algunas realizaciones de plantas transgénicas con ADN recombinante que mejora rasgos cultivadas bajo tal condición de sequía sostenida, también puede aumentarse el peso de semilla total por planta, además de aumentar la tasa de supervivencia dentro de una población transgénica, proporcionando un mayor potencial de rendimiento con respecto a plantas de control.

PEG - Mejora de la tolerancia a la sequía identificada por cribado de tolerancia al estrés osmótico inducido por PEG: Diversos niveles de sequía pueden inducirse artificialmente usando diversas concentraciones de polietilenglicol (PEG) para producir diferentes potenciales osmóticos (Pilon-Smits y col. (1995) Plant Physiol. 107:125-130). Se ha informado que varias características fisiológicas son indicaciones fidedignas para la selección de plantas que poseen tolerancia a la sequía. Estas características incluyen la tasa de germinación de semillas y crecimiento de plantones. Los rasgos pueden ensayarse relativamente fácilmente midiendo la tasa de crecimiento de plantones en disolución de PEG. Por tanto, un cribado de la tolerancia al estrés osmótico inducido por PEG es un sustituto útil para el cribado de tolerancia a la sequía. Como se demuestra a partir del cribado de la planta modelo, realizaciones de plantas transgénicas con ADN recombinante que mejoran rasgos identificadas en un cribado de tolerancia al estrés osmótico inducido por PEG pueden sobrevivir mejor a las condiciones de sequía proporcionando un mayor potencial de rendimiento con respecto a plantas de control.

SS - Mejora de la tolerancia a la sequía identificada por cribado de tolerancia al estrés por alta salinidad: Tres factores diferentes son responsables de las lesiones por sal: (1) efectos osmóticos, (2) alteraciones en el proceso de mineralización, (3) efectos tóxicos producidos por los iones salinos, por ejemplo, inactivación de enzimas. Aunque el primer factor de estrés por sales produce el marchitamiento de las plantas, que es similar al efecto de la sequía, el aspecto iónico del estrés por sales es claramente distinto de la sequía. La presente invención proporciona genes que ayudan a las plantas a mantener la biomasa, crecimiento de las raíces y/o desarrollo de la planta en condiciones de alta salinidad que se identifican como tales en la Tabla 3. Como el efecto osmótico es uno de los componentes principales del estrés por sales, que es común al estrés por sequía, el ADN recombinante que mejora rasgos identificado en un cribado de tolerancia al estrés por alta salinidad puede proporcionar cultivos transgénicos con tolerancia a la sequía mejorada.

HS - Mejora de la tolerancia a la sequía identificada por cribado de tolerancia al estrés por calor: El estrés por calor y por sequía frecuentemente se producen simultáneamente, limitando el crecimiento de la planta. El estrés por calor puede producir la reducción en la velocidad de la fotosíntesis, inhibición del crecimiento de hojas y potencial osmótico en plantas. Por tanto, los genes identificados por la presente invención como genes que confieren tolerancia al estrés por calor también pueden conferir tolerancia a la sequía mejorada a las plantas.

CK y CS - Mejora de la tolerancia al estrés por frío: La baja temperatura puede producir inmediatamente limitaciones mecánicas, cambios en actividades de macromoléculas y potencial osmótico reducido. En la presente invención se establecieron dos condiciones de cribado, es decir, cribado de tolerancia al choque al frío (CK) y cribado de tolerancia a la germinación con frío (CS), para buscar plantas transgénicas que mostraran ventaja de crecimiento visual a menor temperatura. En el cribado de tolerancia a la germinación con frío, plantas de *Arabidopsis* transgénicas se expusieron a una temperatura constante de 8°C desde la siembra hasta el día 28 después de la siembra. Los nucleótidos recombinantes identificados por tal cribado como genes que confieren tolerancia al estrés por frío son particularmente útiles para la producción de planta transgénica que puede germinar más fuertemente en una temperatura fría con respecto a las plantas naturales. En el cribado de tolerancia al choque al frío, las plantas transgénicas se cultivaron primero bajo la temperatura de crecimiento normal de 22°C hasta el día 8 después de la siembra, y posteriormente se colocaron bajo 8°C hasta el día 28 después de la siembra. En algunas realizaciones preferidas, las plantas transgénicas transformadas con las construcciones de ADN recombinante que comprenden SEC ID N°: 1 o SEC ID N°: 2 muestran crecimiento más fuerte en ambos cribados de tolerancia al frío.

Mejora de la tolerancia a múltiples estreses: Diferentes tipos de estreses conducen frecuentemente a reacción idéntica o similar en las plantas. Los genes que se activan o inactivan como una reacción al estrés pueden tanto actuar directamente de forma que el producto genético reduzca un estrés específico como pueden actuar indirectamente activando otros genes de estrés específicos. Manipulando la actividad de tales genes reguladores, es decir, genes de tolerancia a múltiples estreses, puede permitirse que la planta reaccione con diferentes tipos de estreses. Por ejemplos, pueden usarse SEC ID N°: 37, SEC ID N°: 38 y SEC ID N°: 128 para mejorar tanto la tolerancia al estrés por calor como la tolerancia al estrés por frío en plantas. De particular interés, plantas transformadas con SEC ID N°: 59 pueden resistir al estrés por calor, estrés por sales y estrés por frío. Además de

estos genes de tolerancia a múltiples estreses, los genes que confieren tolerancia al estrés proporcionados por la presente invención pueden usarse en combinaciones para generar plantas transgénicas que pueden resistir a condiciones de múltiples estreses.

PP - Mejora del crecimiento y desarrollo temprano de la planta.

5 Se sabe en la técnica que para minimizar el impacto de enfermedad en la rentabilidad del cultivo es importante empezar la temporada con plantas vigorosas sanas. Esto significa evitar enfermedades de la semilla y plantones, conduciendo al aumento de la captación de nutrientes y al aumento del posible rendimiento. Tradicionalmente, sembrar pronto y aplicar fertilizante son los procedimientos usados para promover el vigor temprano de los plantones. En el estado de desarrollo temprano, los embriones de plantas sólo establecen el eje de raíz-brote

10 básico, órgano(s) de almacenamiento de cotiledones y poblaciones de citoblastos, llamadas los meristemas apicales de raíces y brotes, que continuamente generan nuevos órganos durante todo el desarrollo posembriionario. "Crecimiento y desarrollo temprano" usado en el presente documento engloba los estados de imbibición de semillas durante la fase vegetativa temprana. La presente invención proporciona genes que son útiles para producir plantas transgénicas que tienen ventajas en uno o más procesos que incluyen, pero no se limitan a, germinación, vigor de

15 los plantones, crecimiento de raíces y morfología de las raíces bajo condiciones de no estrés. Las plantas transgénicas que se originan a partir de un plantón más fuerte son menos susceptibles a los patógenos fúngicos y bacterianos que se unen a semillas en germinación y plantones. Además, los plantones con ventaja en el crecimiento de raíces son más resistentes al estrés por sequía debido a la amplia arquitectura y más profunda de las raíces. Por tanto, puede reconocerse por aquellos expertos en la materia que los genes que confieren la ventaja de crecimiento en fases tempranas a plantas también pueden usarse para generar plantas transgénicas que son más

20 resistentes a diversas condiciones de estrés debido al desarrollo de la planta temprano mejorado. La presente invención proporciona tales genes a modo de ejemplo que confieren tanto la tolerancia al estrés como las ventajas de crecimiento a plantas, identificados como tales en la Tabla 3, por ejemplo, SEC ID N°: 128, que pueden mejorar el crecimiento y desarrollo temprano de la planta y conferir tolerancia al calor y al frío a las plantas.

SP - Mejora del crecimiento y desarrollo tardío de la planta

"Crecimiento y desarrollo tardío" usado en el presente documento engloba los estados de desarrollo de hojas, producción de flores y madurez de la semilla. En ciertas realizaciones, las plantas transgénicas producidas usando genes que confieren ventajas de crecimiento a plantas proporcionadas por la presente invención, identificados como

30 tales en la Tabla 3, presentan al menos una característica fenotípica que incluye, pero no se limita a, aumento del radio de la roseta, aumento del peso seco de la roseta, peso seco de la semilla, peso seco de la silicua y longitud de la silicua. Por una parte, el radio de la roseta y el peso seco de la roseta se usan como índices de la capacidad de fotosíntesis y, por tanto, la potencia de fuente de la planta y el potencial de rendimiento de una planta. Por otra parte, el peso seco de la semilla, peso seco de la silicua y longitud de la silicua se usan como índices para la potencia de sumidero de la planta, que se consideran los determinantes directos del rendimiento.

LL - Mejora de la tolerancia al estrés por sombra

Los efectos de la luz sobre el desarrollo de la planta son especialmente importantes en el estado de plantón. Bajo condiciones de luz normal con luz directa libre, un plantón se desarrolla según un patrón fotomorfogénico característico, en el que las plantas tienen cotiledones abiertos y extendidos e hipocotilos cortos. Entonces, la

40 energía de la planta se dedica al cotiledón y al desarrollo de hojas mientras que se minimiza el crecimiento en la extensión longitudinal. Bajo condición de luz tenue en el que la calidad e intensidad de la luz se reducen por sombra, obstrucción o alta densidad de población, un plantón muestra un patrón de evitación de la sombra, en el que el plantón muestra una expansión reducida de cotiledones y la extensión de hipocotilos aumenta enormemente. Como resultado, una planta bajo condición de luz tenue aumenta significativamente su longitud de peciolo en la extensión del desarrollo de la hoja, semilla o fruto y órgano de almacenamiento, afectando así adversamente el rendimiento.

45 La presente invención proporciona nucleótidos recombinantes que permiten que las plantas tengan una respuesta de evitación de la sombra atenuada de manera que la fuente de la planta pueda contribuir a un crecimiento reproductor eficientemente, resultando mayor rendimiento con respecto a las plantas naturales. Un experto en la materia puede reconocer que las plantas transgénicas generadas por la presente invención pueden ser adecuadas para una siembra de mayor densidad, resultando así un aumento del rendimiento por unidad de área. En algunas

50 realizaciones preferidas, la presente invención proporciona plantas transgénicas que tienen una respuesta a luz tenue atenuada y ventaja en la formación de capullos de flores.

LN - Mejora de la tolerancia al estrés por baja disponibilidad de nitrógeno

El nitrógeno es un factor clave en el crecimiento de la planta y el rendimiento del cultivo. El metabolismo, crecimiento y desarrollo de las plantas están profundamente afectados por su suministro de nitrógeno. El suministro de nitrógeno

55 limitado altera la relación de brote con respecto a raíz, desarrollo de raíces, actividad de enzimas del metabolismo primario y la tasa de senescencia (muerte) de hojas viejas. Todos los cultivos de campo tienen una dependencia fundamental de fertilizante nitrogenoso orgánico. Como el fertilizante es rápidamente consumido por la mayoría de los tipos de tierra, debe suministrarse a cultivos en crecimiento dos o tres veces durante la temporada de crecimiento. La eficiencia mejorada del uso de nitrógeno por las plantas debe permitir que los cultivos se cultiven

bajo condición de estrés por baja disponibilidad de nitrógeno como resultado del bajo aporte de fertilizante o la mala calidad de la tierra.

Según la presente invención, las plantas transgénicas generadas usando los nucleótidos recombinantes, que confieren eficiencia mejorada del uso de nitrógeno, identificados como tales en la Tabla 3, presentan uno o más rasgos deseables que incluyen, pero no se limitan a, aumento del peso de los plantones, aumento del número de hojas verdes, aumento del número de hojas en la roseta, aumento de la longitud de las raíces y formación avanzada de capullos de flores. Un experto en la materia puede reconocer que las plantas transgénicas con eficiencia mejorada del uso de nitrógeno, establecidas por la presente invención, también pueden tener composiciones de aminoácidos o de proteínas alteradas, aumento del rendimiento y/o mejor calidad de la semilla. Las plantas transgénicas de la presente invención pueden cultivarse productivamente bajo condiciones deficientes en nutrientes de nitrógeno, es decir, tierras pobres en nitrógeno y aporte de fertilizantes con bajo contenido de nitrógeno, que haría que cesara el crecimiento de las plantas naturales o disminuyera de manera que las plantas naturales fueran prácticamente inútiles. Las plantas transgénicas también pueden usarse ventajosamente para lograr maduración más temprana, crecimiento más rápido y/o cultivos de mayor rendimiento y/o producir alimentos y piensos para animales más nutritivos cuando se cultivan usando condiciones de crecimiento no limitantes de nitrógeno.

Rasgos apilados

La presente invención también engloba plantas transgénicas con rasgos manipulados apilados, por ejemplo, un cultivo que tiene un fenotipo mejorado resultante de la expresión de un ADN recombinante que mejora rasgos en combinación con rasgos de resistencia a herbicidas y/o plagas. Por ejemplo, los genes de la presente invención pueden apilarse con otros rasgos de interés agronómico, tales como un rasgo que proporciona resistencia a herbicidas, por ejemplo, un rasgo de RoundUp Ready, o resistencia a insectos, tal como usando un gen de *Bacillus thuringiensis* que proporciona resistencia contra lepidópteros, coleópteros, homiópteros, hemiópteros y otros insectos. Los herbicidas para los que la resistencia es útil en una planta incluyen herbicidas de glifosato, herbicidas de fosfinotricina, herbicidas de oxinilo, herbicidas de imidazolinona, herbicidas de dinitroanilina, herbicidas de piridina, herbicidas de sulfonilurea, herbicidas de bialafos, herbicidas de sulfonamida y herbicidas de glufosinato. Para ilustrar que la producción de plantas transgénicas con resistencia a herbicidas es una capacidad de aquellos expertos en la materia se hace referencia a las publicaciones de solicitud de patente de EE.UU. 2003/0106096A1 y 2002/0112260A1 y las patentes de EE.UU. 5.034.322; 5.776.760, 6.107.549 y 6.376.754. Para ilustrar que la producción de plantas transgénicas con resistencia a plagas es una capacidad de aquellos expertos en la materia se hace referencia a las patentes de EE.UU. 5.250.515 y 5.880.275 que desvelan plantas que expresan una endotoxina de la bacteria *Bacillus thuringiensis*, a la patente de EE.UU. 6.506.599 que desvela el control de invertebrados que se alimentan de plantas transgénicas que expresan ARNbc para suprimir un gen diana en el invertebrado, a la patente de EE.UU. 5.986.175 que desvela el control de plagas víricas por plantas transgénicas que expresan replicasa vírica y a la publicación de solicitud de patente de EE.UU. 2003/0150017 A1 que desvela el control de plagas por una planta transgénica que expresa un ARNbc elegido como diana para suprimir un gen en la plaga.

Una vez se ha identificado un ADN recombinante que confiere un rasgo mejorado de interés en plantas de *Arabidopsis* transgénicas, están disponibles varios procedimientos para usar la secuencia de ese ADN recombinante y el conocimiento sobre la proteína que codifica para identificar homólogos de esa secuencia de la misma planta o diferentes especies de plantas u otros organismos, por ejemplo, bacterias y levadura. Por tanto, puede identificarse un gen homólogo con una secuencia de ADN homóloga a cualquiera de SEC ID N°: 1 a SEC ID N°: 151 y SEC ID N°: 153 a SEC ID N°: 239, o una proteína homóloga con una secuencia de aminoácidos homóloga a SEC ID N°: 408. Además, se proporcionan homólogos para una secuencia enumerada como SEC ID N°: 408.

El ADN recombinante que mejora rasgos y los procedimientos de uso de tal ADN recombinante que mejora rasgos para generar plantas transgénicas con rasgos mejorados proporcionados por la presente invención no se limitan a cualquier especie de planta particular. De hecho, las plantas según la presente invención pueden ser de cualquier especie de planta, es decir, pueden ser monocotiledóneas o dicotiledóneas. Preferentemente, serán plantas útiles agrícolas, es decir, plantas cultivadas por el hombre para los fines de la producción de alimentos o aplicaciones técnicas, particularmente industriales. Son de particular interés en la presente invención plantas de maíz y de soja. Por la presente invención se proporcionan construcciones de ADN recombinante optimizadas para la transformación de soja y la transformación de maíz. Otras plantas de interés en la presente invención para la producción de plantas transgénicas que tienen rasgos mejorados incluyen, sin limitación, algodón, canola, trigo, girasol, sorgo, alfalfa, cebada, mijo, arroz, tabaco, cultivos de frutas y verduras, y césped.

En ciertas realizaciones, la presente invención contempla usar un gen ortólogo en la generación de plantas transgénicas con rasgos similarmente mejorados como el homólogo de *Arabidopsis* transgénico. Las propiedades fisiológicas mejoradas en plantas transgénicas de la presente invención pueden confirmarse en respuestas a condiciones de estrés, por ejemplo, en ensayos usando condiciones de estrés impuestas para detectar respuestas mejoradas a estrés por sequía, deficiencia de nitrógeno, condiciones de crecimiento con frío o, alternativamente, bajo condiciones de estrés naturalmente presentes, por ejemplo, bajo condiciones del campo. La medida de la biomasa puede hacerse en plantas cultivadas en invernadero o en el campo y puede incluir mediciones tales como la altura de la planta, diámetro del tallo, pesos secos de la raíz y el brote y, para plantas de maíz, longitud y diámetro de la espiga.

Los datos de rasgos de cambios morfológicos pueden recogerse por observación visual durante el proceso de regeneración de la planta, además de en plantas regeneradas transferidas a la tierra. Tales datos de rasgos incluyen características tales como plantas normales, plantas pobladas, plantas más altas, tallos más gruesos, hojas estrechas, hojas rayadas, fenotipo nodoso, clorosis, albino, producción de antocianina, o madroños, espigas o raíces alteradas. Otros rasgos mejorados pueden identificarse por mediciones tomadas bajo condiciones en el campo tales como días hasta la liberación de polen, días hasta la formación de barbas, velocidad de extensión de las hojas, contenido de clorofila, temperatura de la hoja, posición, vigor de los plantones, longitud entrenudos, altura de la planta, número de hojas, área de la hoja, macollamiento, raíces adventicias, capacidad para permanecer verde, encamado de los tallos, encamado de las raíces, salud de la planta, esterilidad/prolificidad, quebrado en verde y resistencia a plagas. Además, puede confirmarse el rasgo característico de grano recolectado, que incluye número de granos por fila en la espiga, número de filas de granos en la espiga, aborto de granos, peso de los granos, tamaño de los granos, densidad de granos y calidad física de los granos.

Para confirmar el rendimiento de híbridos en plantas de maíz transgénico que expresan genes de la presente invención puede desearse probar híbridos durante múltiples años en múltiples localizaciones en una localización geográfica en la que convencionalmente se cultiva maíz, por ejemplo, en Iowa, Illinois, u otras localizaciones en la región centro-oeste de Estados Unidos, bajo condiciones de campo "normales", además de bajo condiciones de estrés, por ejemplo, bajo estrés por sequía o por densidad de población.

Las plantas transgénicas pueden usarse para proporcionar partes de la planta según la invención para la regeneración o cultivo de tejido de células o tejidos que contienen las construcciones descritas en el presente documento. Partes de la planta para estos fines pueden incluir hojas, tallos, raíces, flores, tejidos, epicotilo, meristemos, hipocotilos, cotiledones, polen, ovarios, células y protoplastos, o cualquier otra porción de la planta que pueda usarse para regenerar plantas transgénicas, células, protoplastos o cultivo de tejido adicionales. Las semillas de plantas transgénicas que se proporcionan por la presente invención pueden usarse para propagar más plantas que contienen las construcciones de ADN recombinante que mejoran rasgos de la presente invención. Estos descendientes pretenden incluirse en el alcance de la presente invención si contienen una construcción de ADN recombinante que mejora rasgos de la presente invención, tanto si estas plantas están autofecundadas o cruzadas como si no con diferentes variedades de plantas.

Los diversos aspectos de la invención se ilustran por medio de los siguientes ejemplos. Los ejemplos no cubiertos por el alcance de las reivindicaciones son para fines ilustrativos.

Ejemplos

Ejemplo 1. Identificación de ADN recombinante que confiere rasgo(s) mejorado(s) a plantas

A. Construcciones de expresión para la transformación de plantas de *Arabidopsis*

Cada gen de interés se amplificó a partir de un ADNc genómico o biblioteca de ADNc usando cebador específico para secuencias en la dirección 5' y en la dirección 3' de la región codificante. Los vectores de transformación se prepararon para transcribir constitutivamente ADN en orientación tanto sentido (para potenciar la expresión de proteínas) como en orientación antisentido (para la supresión de genes endógenos) bajo el control de un promotor 35S del virus del mosaico de la coliflor potenciado (patente de EE.UU. 5.359.142) directamente o indirectamente (Moore y col. PNAS 95:376-381, 1998; Guyer y col. Genetics 149: 633-639, 1998; solicitud de patente internacional nº PCT/EP98/07577). Los vectores de transformación también contienen un gen *bar* como marcador de selección para resistencia al herbicida glufosinato. La transformación de plantas de *Arabidopsis* se llevó a cabo usando el procedimiento de infiltración de vacío conocido en la técnica (Bethold y col. Methods Mol. Biol. 82:259-66, 1998). Las semillas recogidas de las plantas, llamadas semillas T1, se cultivaron posteriormente en un medio selectivo que contenía glufosinato para seleccionar plantas que en realidad se transformaron y produjeron semilla transgénica T2. Para el cribado de primer pase, las semillas T2 semillas de cinco líneas transgénicas independientes de *Arabidopsis* fueron

B. Cribado de tolerancia a la sequía de la tierra

Este ejemplo describe un cribado de tolerancia a la sequía de la tierra para identificar plantas de *Arabidopsis* transformadas con ADN recombinante que se marchitarán menos rápidamente y/o producirán mayor rendimiento de las semillas cuando se cultiven en tierra bajo condiciones de sequía.

Se sembraron semillas T2 en platos llanos llenos de Metro/Mix® 200 (The Scoits® Company, EE.UU.). Se añadieron bóvedas de humedad a cada plato llano y los platos llanos se asignaron a localizaciones y se pusieron en cámaras de crecimiento de clima controlado. Las plantas se cultivaron bajo una pauta de temperatura de 22°C por el día y 20°C por la noche, con un fotoperiodo de 16 horas e intensidad de luz promedio de 170 µmol/m²/s. Después de aparecer las primeras hojas verdaderas se quitaron las bóvedas de humedad. Las plantas se pulverizaron con el herbicida glufosinato y se pusieron de nuevo en la cámara de crecimiento durante 3 días adicionales. Los platos planos se regaron durante 1 hora la semana siguiente al tratamiento con herbicida. El riego continuó cada siete días hasta que fueron evidentes los primordios de capullos de flores, momento en el que las plantas se regaron por última vez.

Para identificar plantas tolerantes a la sequía, las plantas se evaluaron para respuesta a marchitamiento y rendimiento de las semillas. Empezando diez días después del último riego, las plantas se examinaron diariamente hasta que se marchitaron 4 plantas/línea. En los próximos seis días, las plantas se monitorizaron para la respuesta de marchitamiento. Se asignaron cinco puntuaciones de sequía según la inspección visual de los fenotipos: 1 para sana, 2 para verde oscura, 3 para marchitamiento, 4 marchitamiento grave, y 5 para muerte. Una puntuación de 3 o superior se consideró como marchitada.

Al final de este ensayo, el rendimiento de las semillas medido como peso de la semilla por planta bajo la condición de sequía se caracterizó para las plantas transgénicas y sus controles y se analizó como una respuesta cuantitativa según el Ejemplo 1M.

Se usaron dos enfoques para el análisis estadístico de la respuesta de marchitamiento. Primero se analizó la puntuación de riesgo para fenotipo de marchitamiento y se trató como una respuesta cualitativa según el Ejemplo 1L. Alternativamente se llevó a cabo el análisis de supervivencia en el que las proporciones de plantas transgénicas y de control marchitadas y no marchitadas se compararon con cada uno de los seis días bajo puntuación y se realizó una prueba del orden logarítmico global para comparar las dos curvas de supervivencia usando el software estadístico S-PLUS (S-PLUS 6, Guide to statistics, Insightful, Seattle, WA, EE.UU.). La Tabla 4 proporciona una lista de construcciones de ADN recombinante que mejoran la tolerancia a la sequía en plantas transgénicas.

Tabla 4

SEC PÉP ID	Construcción_id	Orientación	Puntuación de riesgo de la respuesta de marchitamiento			Peso de semilla/planta			Análisis de supervivencia de la respuesta de marchitamiento		
			Media RS	valor de p	c	delta	valor de p	c	Diferencia de tiempo hasta el marchitamiento	valor de p	c
241	74518	SENTIDO	-0,131	0,985	/	1,26	0	S	0	1	/
290	70222	SENTIDO	-0,032	0,726	/	0,461	0,001	S	-0,63	0,21	/
307	18280	SENTIDO	-0,066	0,937	/	0,402	0,004	S	0	1	/
357	70247	SENTIDO	0,11	0,169	T	0,336	0,006	S	-0,57	0,134	/
369	72471	SENTIDO	0,16	0,038	S	-0,053	0,546	/	0,16	0,226	/
398	10188	ANTISENTIDO	0,133	0,004	S	0,68	0	S	0,24	0,297	/
399	10404	ANTISENTIDO	0,13	0,068	T	0,2	0,271	/	0,57	0,083	T
400	11333	ANTISENTIDO	0,266	0,007	S	0,291	0,293	/	0,77	0,131	T
401	11719	ANTISENTIDO	0,56	0,006	S	-0,088	0,751	/	0	1	/
402	13663	ANTISENTIDO	0,123	0,024	S	-0,198	0,763	/	0,04	0,852	/
403	13958	ANTISENTIDO	0,526	0,001	S	0,518	0,08	T	0	1	/
404	15214	ANTISENTIDO	0,018	0,208	/	0,19	0,243	/	0,06	0,815	/
405	10483	SENTIDO	0,313	0,012	S	-0,095	0,795	/	0,28	0,358	/
406	11711	SENTIDO	0,346	0,005	S	0,218	0,009	S	0,3	0,371	/
407	11909	SENTIDO	0,094	0,021	S	0,002	0,493	/	0,26	0,767	/
408	12216	SENTIDO	0,623	0	S	-0,195	0,714	/	2,55	0,007	S
409	12236	SENTIDO	0,233	0,019	S	0,32	0,026	S	0,29	0,124	T
410	12256	SENTIDO	0,254	0,001	S	0,133	0,245	/	0,09	0,869	/
411	12806	SENTIDO	0,198	0,016	S	0,689	0,018	S	0,16	0,696	/
412	12904	SENTIDO	0,292	0,033	S	-1,195	0,992	/	0,81	0,023	S
413	13212	SENTIDO	0,24	0,006	S	0,676	0,01	S	0,25	0,559	/
414	13232	SENTIDO	0,166	0,134	T	-0,044	0,568	/	0,81	0,105	T

(continuación)

SEC PÉP ID	Construcción_id	Orientación	Puntuación de riesgo de la respuesta de marchitamiento			Peso de semilla/planta			Análisis de supervivencia de la respuesta de marchitamiento		
			Media RS	valor de p	c	delta	valor de p	c	Diferencia de tiempo hasta el marchitamiento	valor de p	c
415	13912	SENTIDO	0,3	0	S	-0,084	0,74	/	0,91	0,054	T
416	14327	SENTIDO	0,181	0,008	S	-0,423	0,831	/	0,75	0,021	S
417	14704	SENTIDO	0,174	0,01	S	0,26	0,003	S	0,92	0,538	/
418	14714	SENTIDO	0,313	0,007	S	-0,283	0,987	/	0,3	0,702	/
419	15142	SENTIDO	0,28	0	S	-0,498	0,871	/	0,29	0,196	T
420	17450	SENTIDO	0,117	0,102	T	0,238	0,079	T	-0,05	0,834	/
421	18607	SENTIDO	0,161	0,013	S	-0,167	0,782	/	0,64	0,034	S
422	19409	SENTIDO	0,177	0,032	S	0,33	0,119	T	0,36	0,298	/
423	19412	SENTIDO	0,501	0,001	S	-0,006	0,515	/	0,15	0,84	/

S: representa que las plantas transgénicas mostraron mejora estadísticamente significativa del rasgo con respecto a la referencia (p<0,05, valor de p, de la delta de una respuesta cuantitativa o de la puntuación de riesgo de una respuesta cualitativa, es la probabilidad de que la diferencia observada entre las plantas transgénicas y la referencia se produzca por casualidad)

T: representa que las plantas transgénicas mostraron una tendencia de mejora de rasgos con respecto a la referencia, preferentemente con p<0,2 ,

/: representa que las plantas transgénicas no mostraron ninguna alteración o tuvieron cambio desfavorable en los rasgos examinados en comparación con la referencia en el presente conjunto de datos

C. Cribado de tolerancia al estrés por calor

- 5 Bajo altas temperaturas, plantones de *Arabidopsis* se vuelven cloróticos y se inhibe el crecimiento de raíces. Este ejemplo expone el cribado de tolerancia al estrés por calor para identificar plantas de *Arabidopsis* transformadas con el gen de interés que son más resistentes al estrés por calor basándose principalmente en su peso de plantones y crecimiento de raíces bajo alta temperatura. Semillas T2 se sembraron en placas en 1/2 X sales MS, 1% de Phytigel, con 10 µg/ml de glufosinato (7 por placa con 2 semillas de control; 9 semillas totales por placa). Las placas se colocaron a 4°C durante 3 días para estratificar las semillas. Entonces, las placas se incubaron a temperatura ambiente durante 3 horas y luego se mantuvieron verticalmente durante 11 días adicionales a temperatura de 34°C por el día y 20°C por la noche. El fotoperiodo fue 16 h. La intensidad de luz promedio fue ~ 140 µmol/m²/s. Después de 14 días de crecimiento, las plantas se puntuaron para resistencia a glufosinato, longitud de las raíces, estado de crecimiento final, color visual y peso fresco de los plantones. Se tomó una fotografía de la placa completa en el día 14.
- 10 La evaluación visual se llevó a cabo para evaluar la robustez del crecimiento basándose en el tamaño de las hojas y el tamaño de las rosetas.
- 15 El peso de los plantones y la longitud de las raíces se analizaron como respuestas cuantitativas según el Ejemplo 1M. El estado de crecimiento final en el día 14 se puntuó como éxito si el 50% de las plantas había alcanzado 3 hojas en la roseta y el tamaño de las hojas era superior a 1 mm (Boyes y col. (2001) The Plant Cell 13, 1499-1510). Los datos del estado de crecimiento se analizaron como una respuesta cualitativa según el Ejemplo 1L. La Tabla 5 proporciona una lista de construcciones de ADN recombinante que mejoran la tolerancia al calor en plantas transgénicas.
- 20

Tabla 5

SEC PÉP ID	Construcción_id	Orientación	Peso de los plantones			Longitud de las raíces			Estado de crecimiento		
			delta	valor de p	c	delta	valor de p	c	media RS	valor de p	c
268	12007	ANTISENTIDO	1,283	0	S	0,221	0,018	S	0,844	0,044	S
269	12290	ANTISENTIDO	0,92	0,002	S	-0,09	0,683	/	0,4	0,14	T
270	12343	ANTISENTIDO	1,186	0	S	0,008	0,478	/	-0,066	0,818	/
271	14348	ANTISENTIDO	0,917	0	S	0,047	0,352	/	0,034	0,314	/
272	15708	ANTISENTIDO	1,12	0	S	0,122	0,092	T	0,467	0,016	S
273	17615	ANTISENTIDO	1,134	0	S	0,176	0,084	T	0,541	0,102	T
274	17622	ANTISENTIDO	0,728	0	S	- 0,142	0,874	/	0,875	0,002	S
275	70714	ANTISENTIDO	1,029	0	S	0,032	0,355	/	-0,003	0,515	/
276	17925	SENTIDO	0,969	0	S	- 0,027	0,588	/	0,22	0,215	/
277	18541	SENTIDO	0,977	0	S	- 0,012	0,559	/	0,982	0,028	S
278	11425	SENTIDO	1,255	0	S	0,152	0,096	T	0,516	0,005	S
279	12263	SENTIDO	0,869	0,003	S	- 0,023	0,552	/	0,481	0,113	T
280	12288	ANTISENTIDO	1,256	0	S	0,086	0,314	/	0,968	0,036	S
281	12910	SENTIDO	1,067	0,105	T	0,097	0,274	/	-0,417	1	/
282	14335	SENTIDO	1,107	0	S	0,16	0	S	-0,024	0,804	/
283	17427	SENTIDO	0,837	0	S	- 0,069	0,706	/	0,569	0,087	T
284	19140	SENTIDO	0,894	0	S	0,111	0,131	T	1,794	0	S
285	19179	SENTIDO	1,039	0	S	- 0,095	0,742	/	0,614	0,063	T
286	19251	SENTIDO	0,77	0	S	- 0,061	0,771	/	0,543	0,027	S
287	19443	SENTIDO	1,115	0	S	0,042	0,369	/	0,537	0,078	T
288	19607	SENTIDO	0,939	0	S	0,024	0,381	/	0,095	0,215	/
289	19915	SENTIDO	1,336	0,057	T	0,19	0,299	/	0,07	0	S
290	70222	SENTIDO	0,778	0,004	S	- 0,078	0,677	/	1,153	0,015	S
291	70464	SENTIDO	1,039	0	S	0,026	0,411	/	0,806	0,04	S
292	70474	SENTIDO	1,026	0	S	0,094	0,207	/	1,145	0,03	S
293	70484	SENTIDO	1,511	0	S	0,236	0,004	S	0,688	0,016	S
294	72474	SENTIDO	0,816	0	S	0,095	0,229	/	1,149	0,01	S

(continuación)

SEC PÉP ID	Construcción_id	Orientación	Peso de los plantones			Longitud de las raíces			Estado de crecimiento		
			delta	valor de p	c	delta	valor de p	c	media RS	valor de p	c
298	19252	SENTIDO	0,571	0,111	T	0,02	0,416	/	1,27	0,022	S
347	18854	SENTIDO	0,854	0	S	-0,14	0,896	/	0,595	0,148	T
351	16226	SENTIDO	1,372	0	S	0,244	0,009	S	0,112	0,017	S
357	70247	SENTIDO	1,146	0	S	0,124	0,114	T	0,953	0,029	S
359	12635	SENTIDO	0,702	0,109	T	0,587	0,001	S	0,637	0,06	T
367	14338	SENTIDO	0,888	0	S	0,036	0,326	/	0,17	0,077	T
368	17809	SENTIDO	0,838	0,002	S	0,033	0,308	/	0,619	0,04	S
369	72471	SENTIDO	1,051	0,001	S	0,067	0,227	/	1,531	0,005	S
373	72772	SENTIDO	1,364	0	S	0,299	0,002	S	0,648	0,045	S
395	70202	SENTIDO	1,159	0	S	- 0,116	0,941	/	0,339	0,159	T
435	19719	SENTIDO	1,184	0	S	0,032	0,411	/	1,433	0,018	S
473	19077	SENTIDO	1,405	0	S	0,026	0,369	/	0,61	0,013	S
474	19178	SENTIDO	1,381	0	S	0,267	0,008	S	1,54	0,006	S
<p>S: representa las plantas transgénicas que mostraron mejora de rasgos estadísticamente significativa con respecto a la referencia ($p < 0,05$)</p> <p>T: representa las plantas transgénicas que mostraron una tendencia de mejora de rasgos con respecto a la referencia, preferentemente con $p < 0,2$</p> <p>/: representa las plantas transgénicas que no mostraron ninguna alteración o tuvieron cambio desfavorable en los rasgos examinados en comparación con la referencia en el presente conjunto de datos</p>											

D. Cribado de tolerancia al estrés por sal

Este ejemplo expone el cribado de estrés por alta salinidad para identificar plantas de *Arabidopsis* transformadas con el gen de interés que son tolerantes a altos niveles de sal basándose en su velocidad de desarrollo, crecimiento de raíces y acumulación de clorofila bajo altas condiciones de sal.

5

Semillas T2 se sembraron en placas de selección de glufosinato que contenían NaCl 90 mM y se cultivaron bajo condiciones de luz y temperatura convencionales. Todos los plantones usados en el experimento se cultivaron a una temperatura de 22°C por el día y 20°C por la noche, un fotoperiodo de 16 horas, una intensidad de luz promedio de aproximadamente 120 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$. En el día 11, las plantas se midieron para la longitud de raíces primarias. Después de 3 días más de crecimiento (día 14), las plantas se puntuaron para estado transgénico, longitud de raíces primarias, estado de crecimiento, color visual y los plantones se reunieron para medición del peso fresco. También se tomó una fotografía de la placa completa en el día 14.

10

La evaluación visual se llevó a cabo para evaluar la robustez del crecimiento basándose en el tamaño de las hojas y el tamaño de las rosetas.

15

El peso de los plantones y la longitud de las raíces se analizaron como respuestas cuantitativas según el Ejemplo 1M. El estado de crecimiento final en el día 14 se puntuó como éxito si el 50% de las plantas alcanzaron 3 hojas en la roseta y el tamaño de las hojas era superior a 1 mm (Boyes, D.C. y col. (2001), The Plant Cell 13, 1499/1510). Los datos del estado de crecimiento se analizaron como una respuesta cualitativa según el Ejemplo 1L.

Tabla 6: Una lista de nucleótidos recombinantes que mejoran la tolerancia a alta salinidad en plantas

SEC PÉP ID	Construcción id	Peso de plantones en el día 14			Longitud de las raíces en el día 11			Longitud de las raíces en el día 14			Estado de crecimiento		
		delta	valor de p	c	delta	valor de p	c	delta	valor de p	c	media RS	valor de p	c
243	17918	0,749	0,001	S	0,007	0,945	/	0,054	0,348	/	0,107	0,152	T
258	17819	0,713	0,026	S	0,281	0,09	T	0,29	0,01	S	1,565	0,025	S
285	19179	0,939	0	S	0,228	0,044	S	0,269	0,001	S	1,561	0,034	S
298	19252	0,831	0,003	S	0,327	0,016	S	0,334	0,001	S	1,5	0,028	S
312	70405	0,266	0,096	T	0,051	0,628	/	0,202	0,014	S	-0,201	0,766	/
372	18395	0,506	0,008	S	0,27	0,033	S	0,24	0,007	S	0,653	0,016	S
376	11409	0,834	0,004	S	0,305	0,007	S	0,329	0,001	S	0,712	0,073	T
390	18392	0,767	0	S	0,325	0,005	S	0,181	0,034	S	0,698	0,109	T
424	13005	0,787	0,003	S	0,228	0,021	S	0,161	0,12	T	1,079	0,013	S
439	18513	0,779	0,019	S	0,377	0,013	S	0,298	0,002	S	0,679	0,069	T
463	12332	0,292	0,604	/	0,204	0,22	/	0,057	0,829	/	0,538	0,188	T
464	13649	0,418	0,03	S	0,062	0,493	/	0,147	0,1	T	1,39	0,028	S
465	16113	0,108	0,305	/	0,168	0,221	/	0,138	0,076	T	1,09	0,068	T
466	12069	0,708	0,043	S	0,162	0,091	T	0,165	0,354	/	0,306	0,074	T
467	12906	0,764	0,05	T	0,185	0,039	S	0,175	0,01	S	1,212	0,009	S
468	13443	0,113	0,629	/	-0,061	0,542	/	-0,001	0,993	/	0,658	0,096	T
469	14707	0,388	0,159	T	0,088	0,452	/	-0,094	0,564	/	0,366	0,012	S
470	15116	0,576	0,02	S	0,362	0,01	S	0,221	0,063	T	1,414	0,027	S
471	16117	0,038	0,789	/	0,02	0,87	/	-0,003	0,98	/	0,599	0,224	/
472	16136	0,465	0,001	S	0,297	0	S	0,172	0,007	S	1,911	0,005	S

(continuación)

SEC PÉP ID	Construcción id	Peso de plántones en el día 14			Longitud de las raíces en el día 11			Longitud de las raíces en el día 14			Estado de crecimiento		
		delta	valor de p	c	delta	valor de p	c	delta	valor de p	c	media RS	valor de p	c
473	19077	0,525	0,02	S	0,23	0,006	S	0,214	0	S	0,299	0,116	T
474	19178	0,398	0,22	/	0,231	0,106	T	0,219	0,046	S	0,456	0,213	/
475	70752	0,273	0,379	/	0,122	0,387	/	0,096	0,417	/	-0,022	0,519	/
476	70753	0,21	0,459	/	-0,015	0,864	/	0,116	0,286	/	0,489	0,128	T
477	70809	0,802	0,007	S	0,233	0	S	0,348	0	S	2,24	0,009	S
478	72091	0,608	0,014	S	0,115	0,249	/	0,152	0,091	T	0,398	0,267	/
S: representa las plantas transgénicas que mostraron mejora de rasgos estadísticamente significativa con respecto a la referencia (p<0,05) T: representa las plantas transgénicas que mostraron una tendencia de mejora de rasgos con respecto a la referencia, preferentemente con p<0,2 /: representa las plantas transgénicas que no mostraron ninguna alteración o tuvieron cambio desfavorable en los rasgos examinados en comparación con la referencia en el presente conjunto de datos													

E. Cribado de la tolerancia al estrés osmótico inducido por polietilenglicol (PEG)

Hay numerosos factores que pueden influir en la germinación de semillas y el posterior crecimiento de plantones, siendo uno la disponibilidad de agua. Los genes que pueden afectar directamente la tasa de éxito de la germinación y el crecimiento temprano de plantones son rasgos agronómicos posiblemente útiles para mejorar la germinación y el crecimiento de plantas de cultivo bajo estrés por sequía. En este ensayo se usó PEG para inducir estrés osmótico en líneas transgénicas en germinación de semillas de *Arabidopsis thaliana* con el fin de cribar líneas de semillas osmóticamente resistentes.

Semillas T2 se sembraron en placas de selección de glufosinato que contenían 3% de PEG y se cultivaron bajo condiciones de luz y temperatura convencionales. Las semillas se sembraron en cada placa que contenía 3% de PEG, 1/2 X sales MS, 1% de Phytigel y 10 µg/ml de glufosinato. Las placas se colocaron a 4°C durante 3 días para estratificar las semillas. En el día 11, las plantas se midieron para longitud de raíces primarias. Después de 3 días de crecimiento más, es decir, en el día 14, las plantas se puntuaron para estado transgénico, longitud de raíces primarias, estado de crecimiento, color visual y los plantones se reunieron para medición del peso fresco. Se tomó una fotografía de la placa completa en el día 14. La evaluación visual se llevó a cabo para evaluar la robustez del crecimiento basándose en el tamaño de las hojas y el tamaño de las rosetas.

El peso de los plantones y la longitud de las raíces se analizaron como respuestas cuantitativas según el Ejemplo 1M. El estado de crecimiento final en el día 14 se puntuó como éxito o fracaso basándose en si las plantas alcanzaron 3 hojas en la roseta y el tamaño de las hojas era superior a 1 mm. Los datos del estado de crecimiento se analizaron como una respuesta cualitativa según el Ejemplo 1L.

Tabla 7: Una lista de nucleótidos recombinantes que mejoran la tolerancia al estrés osmótico en plantas

SEC PEP ID	Construcción	Peso de los plántones en el día 14				Longitud de las raíces en el día 11				Longitud de las raíces en el día 14				Estado de crecimiento			
		delta	valor de p	c	delta	valor de p	c	delta	valor de p	c	delta	valor de p	c	media RS	valor de p	c	
241	74518	0,53	0,018	S	0,217	0,024	S	0,217	0,024	S	0,51	0,001	S	4	0	S	
345	14825	0,414	0,181	T	0,271	0,053	T	0,271	0,053	T	0,102	0,34	/	2,105	0,01	S	
346	17931	0,295	0,425	/	0,124	0,574	/	0,124	0,574	/	0,116	0,454	/	2,069	0,085	T	
347	18854	0,484	0,015	s	0,342	0,011	S	0,342	0,011	S	0,159	0,073	T	1,023	0,238	/	
348	12237	0,371	0,165	T	0,325	0,001	S	0,325	0,001	S	0,297	0,003	S	2,191	0,017	S	
349	13414	0,137	0,311	/	0,241	0,069	T	0,241	0,069	T	0,265	0,045	S	2,461	0,027	S	
350	16160	0,303	0,044	S	0,242	0,035	S	0,242	0,035	S	0,077	0,512	/	3,381	0,001	S	
351	16226	0,367	0,047	S	0,132	0,224	/	0,132	0,224	/	0,097	0,276	/	4	0	S	
352	16803	0,382	0,036	S	0,125	0,489	/	0,125	0,489	/	0,224	0,023	S	4	0	S	
353	18260	0,183	0,315	/	0,125	0,315	/	0,125	0,315	/	0,146	0,143	T	3,362	0,002	S	
354	18642	0,076	0,674	/	0,199	0,09	T	0,199	0,09	T	0,199	0,029	S	3,056	0,002	S	
355	18721	0,336	0,104	T	0,177	0,145	T	0,177	0,145	T	0,109	0,228	/	2,281	0,02	S	
356	19254	0,334	0,242	/	0,155	0,227	/	0,155	0,227	/	0,153	0,183	T	0,905	0,129	T	
357	70247	0,45	0,138	T	0,334	0,008	S	0,334	0,008	S	0,169	0,07	T	2,692	0,013	S	
358	70650	0,215	0,121	T	0,105	0,114	T	0,105	0,114	T	0,092	0,255	/	2,749	0,011	S	
374	19441	0,413	0,017	S	0,256	0,003	S	0,256	0,003	S	0,098	0,085	T	2,324	0,04	S	
424	13005	0,685	0,008	S	0,395	0,002	S	0,395	0,002	S	0,226	0,013	S	3,787	0	S	
435	19719	0,306	0,04	S	0,135	0,051	T	0,135	0,051	T	-0,028	0,426	/	-0,338	0,598	/	
474	19178	0,515	0,02	S	0,21	0,059	T	0,21	0,059	T	0,169	0,08	T	3,53	0	S	

S: representa las plantas transgénicas que mostraron mejora de rasgos estadísticamente significativa con respecto a la referencia (p<0,05)
T: representa las plantas transgénicas que mostraron una tendencia de mejora de rasgos en comparación con la referencia, preferentemente con p<0,2
/: representa las plantas transgénicas que no mostraron ninguna alteración o tuvieron cambio desfavorable en los rasgos examinados en comparación con la referencia en el presente conjunto de datos

F. Cribado de tolerancia al choque al frío

Este ejemplo expone un cribado para identificar plantas de *Arabidopsis* transformadas con los genes de interés que son más tolerantes al estrés por frío sometidas durante el día 8 al día 28 después de la siembra de semillas. Durante estas fases tempranas cruciales se midieron el crecimiento de plántones y el aumento del área de la hoja para evaluar la tolerancia cuando plántones de *Arabidopsis* se expusieron a bajas temperaturas. Usando este cribado pueden encontrarse alteraciones genéticas que permiten que las plantas germinen y crezcan mejor que las plantas naturales bajo exposición repentina a bajas temperaturas.

Se probaron semillas T2. Once plántones de cada línea más una línea de control se plantaron juntos en una placa que contenía ½ X sales de Gamborg con 0,8 Phytigel™, 1% de Phytigel y 0,3% de sacarosa. Entonces, las placas se orientaron horizontalmente y se estratificaron durante tres días a 4°C. En el día tres, las placas se sacaron de la estratificación y se expusieron a condiciones convencionales (fotoperiodo de 16 h, 22°C por el día y 20°C por la noche) hasta el día 8. En el día ocho, las placas se sacaron de las condiciones convencionales y se expusieron a condiciones de choque al frío (fotoperiodo de 24 h, 8°C tanto por el día como por la noche) hasta el día final del ensayo, es decir, el día 28. Las áreas de las rosetas se midieron el día 8 y el día 28, que se analizaron como respuestas cuantitativas según el Ejemplo 1M.

Tabla 8: Una lista de nucleótidos recombinantes que mejoran la tolerancia al estrés por choque al frío en plantas

SEC PÉPID	Construcción_id	Orientación	Área en roseta en el día 8			Área en roseta en el día 28			Diferencia en el área en roseta entre el día 28 y el día 8		
			delta	valor de p	c	delta	valor de p	c	delta	valor de p	c
240	19867	SENTIDO	- 0,032	0,603	1	0,15	0,309	/	0,426	0,064	T
241	74518	SENTIDO	0,184	0,192	T	0,653	0,001	S	0,796	0	S
242	15816	SENTIDO	0,366	0,027	S	0,592	0,002	S	0,666	0,004	S
243	17918	SENTIDO	0,594	0	S	0,982	0	S	1,325	0	S
276	17925	SENTIDO	0,479	0,001	S	0,693	0	S	0,872	0	S
474	19178	SENTIDO	0,23	0,083	T	0,435	0,026	S	0,435	0,103	T

S: representa las plantas transgénicas que mostraron mejora de rasgos estadísticamente significativa con respecto a la referencia (p<0,05)
T: representa las plantas transgénicas que mostraron una tendencia de mejora de rasgos en comparación con la referencia, preferentemente con p<0,2
/: representa las plantas transgénicas que no mostraron ninguna alteración o tuvieron cambio desfavorable en los rasgos examinados en comparación con la referencia en el presente conjunto de datos

G. Cribado de tolerancia a la germinación con frío

Este ejemplo expone un cribado para identificar que plantas de *Arabidopsis* transformadas con los genes de interés son resistentes al estrés por frío basándose en su tasa de desarrollo, crecimiento de raíces y acumulación de clorofila bajo condiciones de baja temperatura.

Se sembraron semillas T2 y todos los plántones usados en el experimento se cultivaron a 8°C. Las semillas se desinfectaron primero superficialmente usando gas cloro y luego se sembraron en placas de ensayo que contenían una disolución acuosa de 1/2 X de mezcla de sal basal B/5 de Gamborg (Sigma/Aldrich Corp., St. Louis, MO, USA G/5788), 1% de Phytigel™ (Sigma-Aldrich, P-8169) y 10 µg/ml de BASTA™ (Bayer Crop Science, Fráncfort, Alemania), con el pH final ajustado a 5,8 usando KOH. Las placas de prueba de mantuvieron verticalmente durante 28 días a una temperatura constante de 8°C, un fotoperiodo de 16 h e intensidad de luz promedio de aproximadamente 100 µmol/m²/s. 28 días después de la siembra se midió la longitud de las raíces, se observó el estado de crecimiento, se evaluó el color visual y se tomó una fotografía de la placa completa.

La evaluación visual se llevó a cabo para evaluar la robustez del crecimiento basándose en el tamaño de las hojas y el tamaño de las rosetas.

La longitud de las raíces en el día 28 se analizó como una respuesta cuantitativa según el Ejemplo 1M. El estado de crecimiento en el día 7 se analizó como una respuesta cualitativa según el Ejemplo 1L.

Tabla 9: Una lista de nucleótidos recombinantes que mejoran la tolerancia al estrés por frío en plantas

SEC PÉP ID	Construcción_id	Orientación	Longitud de las raíces en el día 28			Estado de crecimiento en el día 28		
			delta	valor de p	c	Media RAS	valor de p	c
240	19867	SENTIDO	0,071	0,292	/	1,954	0,103	T
241	74518	SENTIDO	0,278	0,031	S	4	0	S
244	15306	ANTISENTIDO	0,176	0,142	T	1,582	0,067	T
245	12038	SENTIDO	0,045	0,188	T	2,271	0,022	S
246	12046	SENTIDO	0,177	0,125	T	3,513	0	S
247	13432	SENTIDO	0,182	0,015	S	1,108	0,078	T
248	13711	SENTIDO	0,15	0,022	S	2,357	0,012	S
249	14809	SENTIDO	-0,034	0,631	/	1,95	0,047	S
250	14951	SENTIDO	0,237	0,053	T	3,387	0,001	S
251	15632	SENTIDO	0,003	0,481	/	0,49	0,275	/
252	16147	SENTIDO	0,176	0,016	S	3,284	0,003	S
253	16158	SENTIDO	0,084	0,235	/	1,432	0,138	T
254	16170	SENTIDO	0,066	0,354	/	1,995	0,088	T
255	16171	SENTIDO	-0,178	0,842	/	-0,671	0,732	/
256	16175	SENTIDO	-0,054	0,7	/	1,231	0,184	T
257	17430	SENTIDO	0,254	0,135	T	2,776	0,009	S
258	17819	SENTIDO	0,221	0,028	S	-0,475	0,922	/
259	17921	SENTIDO	-0,151	0,912	/	1,291	0,179	T
260	17928	SENTIDO	0,368	0,028	S	2,599	0,003	S
261	18637	SENTIDO	0,158	0,225	/	1,143	0,164	T
262	18816	SENTIDO	0,206	0,075	T	3,038	0,002	S
263	19227	SENTIDO	0,198	0,058	T	3,068	0,002	S
264	19429	SENTIDO	0,258	0,062	T	2,582	0,006	S
265	70235	SENTIDO	0,175	0,065	T	2,584	0,006	S
266	72634	SENTIDO	0,169	0,064	T	2,835	0,001	S
267	72752	SENTIDO	0,292	0,019	S	2,816	0,002	S
273	17615	ANTISENTIDO	0,317	0,006	S	2,239	0,022	S
277	18541	SENTIDO	0,321	0,072	T	2,631	0,014	S
293	70484	SENTIDO	0,2	0,018	S	2,61	0,016	S
298	19252	SENTIDO	0,391	0,002	S	1,041	0,084	T
346	17931	SENTIDO	0,096	0,059	T	1,213	0,142	T

(continuación)

SEC PÉP ID	Construcción_id	Orientación	Longitud de las raíces en el día 28			Estado de crecimiento en el día 28		
			delta	valor de p	c	Media RAS	valor de p	c
357	70247	SENTIDO	0,299	0,006	S	2,607	0,005	S
366	19610	SENTIDO	0,33	0,079	T	4	0	S
367	14338	SENTIDO	0,223	0,071	T	1,125	0,087	T
376	11409	SENTIDO	0,193	0	S	1,831	0,024	S
434	17922	SENTIDO	0,238	0,029	S	3,109	0,002	S

S: representa las plantas transgénicas que mostraron mejora de rasgos estadísticamente significativa con respecto a la referencia (p<0,05)
T: representa las plantas transgénicas que mostraron una tendencia de mejora de rasgos con respecto a la referencia, preferentemente con p<0,2
/: representa las plantas transgénicas que no mostraron ninguna alteración o tuvieron cambio desfavorable en los rasgos examinados en comparación con la referencia en el presente conjunto de datos

H. Cribado de tolerancia a la sombra-luz tenue

5 Las plantas se someten a una respuesta morfológica característica en sombra que incluye el alargamiento del peciolo, un cambio en el ángulo de las hojas y una reducción en el contenido de clorofila. Aunque estos cambios pueden conferir una ventaja competitiva a individuos, en un monocultivo la respuesta de evitación de la sombra se cree que reduce la biomasa global de la población. Por tanto, alteraciones genéticas que previenen la respuesta de evitación de la sombra pueden asociarse a mayor rendimiento. Los genes que favorecen el crecimiento bajo condiciones de luz tenue también pueden promover el rendimiento, ya que niveles de luz inadecuados frecuentemente limitan el rendimiento. Este protocolo describe un cribado para buscar plantas de *Arabidopsis* que muestran una respuesta de evitación de la sombra atenuada y/o crecen mejor que plantas de control bajo intensidad de luz tenue. De particular interés, los inventores estuvieron buscando plantas que no extendieran su longitud de peciolo, tuvieran un aumento en el peso de los plantones con respecto a la referencia y tuvieran hojas que fueran más próximas a paralelas a la superficie de la placa.

15 Se sembraron semillas T2 en placas de selección de glufosinato con ½ de medio MS. Las semillas se sembraron en 1/2 X de sales MS, 1% de Phytigel, 10 ug/ml de BASTA. Las plantas se cultivaron en placas verticales a una temperatura de 22°C por el día, 20°C por la noche y bajo luz tenue (aproximadamente 30 uE/m²/s, relación rojo/rojo lejano (655/665/725/735) ~0,35 usando luces PLAQ con filtro de color GAM nº 680). Veintitrés días después de sembrarse los plantones se registraron mediciones que incluyeron estado de los plantones, número de hojas en la roseta, estado de los capullos de flores, ángulo del peciolo-hoja, longitud del peciolo y pesos frescos reunidos. Se tomó una imagen digital de la placa completa en el día de medición. El peso de los plantones y la longitud del peciolo se analizaron como respuestas cuantitativas según el Ejemplo 1M. El número de hojas en la roseta, formación de capullos en floración y el ángulo de la hoja se analizaron como respuestas cualitativas según el Ejemplo 1L.

Tabla 10: Una lista de nucleótidos recombinantes que mejoran la tolerancia a la sombra en plantas

SEC PÉP ID	Construcción_id	Formación de capullos de flores en el día 23			Angulo de la hoja en el día 23			Longitud del peciolo en el día 23			Número de hojas en la roseta en el día 23			Peso de los plantones en el día 23		
		media RS	valor de p	c	media RS	valor de p	c	delta	valor de p	c	media RS	valor de p	c	delta	valor de p	c
262	18816	3,007	0,003	S	0,738	0,003	S	0,046	0,561	/	-0,383	0,929	/	0,171	0,011	S
282	14335	1,81	0,029	S	0,404	0,032	S	0,204	0,301	/	-0,043	0,814	/	0,39	0,093	T
295	13047	2,261	0,006	S	0,482	0,106	T	-0,097	0,31	/	1,655	0,088	T	0,463	0,022	S
296	13304	-0,118	0,643	/	-0,164	0,861	/	-0,228	0,106	T	1,214	0,068	T	0,244	0,421	/
297	13474	-0,319	0,583	/	0,419	0,062	T	-0,051	0,153	T	0,633	0,032	s	0,223	0,002	S
298	19252	-2	0,962	/	0,239	0,257	/	0,099	0,242	/	1,153	0,056	T	0,497	0	S
299	12612	-0,627	0,975	/	-0,094	0,766	/	-0,037	0,341	/	0,61	0,092	T	-0,304	0,298	/
300	12926	0,827	0,15	T	-0,278	1	/	-0,02	0,51	/	0,489	0,218	/	-0,374	0,279	/
301	13230	-0,228	0,954	/	-0,05	0,668	/	0,057	0,33	/	1,83	0,025	S	0,33	0,124	T
302	14235	-0,511	1	/	0,084	0,271	/	-0,324	0,045	S	-0,205	0,848	/	-0,536	0,016	/
303	17305	0,056	0,374	/	0,036	0,226	/	-0,055	0,59	/	0,788	0,143	T	-0,058	0,761	/
304	17470	0,319	0,344	/	0,231	0,112	T	-0,218	0,24	/	1,314	0,052	T	0,094	0,612	/
305	17718	-1,438	0,985	/	0,005	0,486	/	-0,148	0,016	S	1,793	0,027	S	0,033	0,728	/
306	17904	0,965	0,105	T	0,252	0,071	T	-0,15	0,359	/	1,01	0,027	S	-0,022	0,844	/
307	18280	-0,176	0,626	/	0,284	0,258	/	-0,056	0,547	/	1,35	0,037	S	0,269	0,086	T
308	18287	-2,441	0,941	/	0,078	0,348	/	-0,022	0,785	/	1,193	0,05	T	0,292	0,056	T
309	18501	-0,087	1	/	-0,326	1	/	-0,254	0,05	T	0,23	0,438	/	-0,303	0,789	/
310	18877	0,181	0,414	/	0,016	0,41	/	-0,119	0,372	/	0,351	0,212	/	0,076	0,604	/
311	19531	4	0	S	0,04	0,379	/	-0,142	0,344	/	-0,253	0,809	/	0,001	0,998	/
312	70405	-0,931	0,991	/	-0,114	0,957	/	-0,186	0,038	S	0,674	0,188	T	0,13	0,177	T

(continuación)

SEC PÉP ID	Construcción_id	Formación de capullos de flores en el día 23			Ángulo de la hoja en el día 23			Longitud del peciolo en el día 23			Número de hojas en la roseta en el día 23			Peso de los plantones en el día 23		
		media RS	valor de p	c	media RS	valor de p	c	delta	valor de p	c	media RS	valor de p	c	delta	valor de p	c
313	72136	-1,001	1	/	1,063	0,08	T	-0,621	0,008	S	0,775	0,014	S	-1,081	0,018	/
314	72611	-0,476	0,834	/	0,868	0,121	T	-0,262	0,102	T	1,728	0,044	S	-0,365	0,23	/
370	16403	2,223	0,01	S	0,132	0,144	T	-0,157	0,484	/	-1,052	0,999	/	0,148	0,766	/
427	12018	1,283	0,059	T	0,309	0,254	/	-0,006	0,959	/	0,663	0,14	T	-0,643	0,017	/
434	17922	1,171	0,136	T	-0,046	0,58	/	0,057	0,624	/	-0,042	0,614	/	0,317	0,056	T
436	17336	-0,987	1	/	-0,297	1	/	-0,11	0,079	T	1,082	0,074	T	-0,121	0,636	/
437	17735	-3,705	1	/	-0,016	0,524	/	-0,135	0,084	T	0,882	0,022	S	0,014	0,9	/
477	70809	-1,333	0,913	/	0,184	0,173	T	0,102	0,256	/	0,236	0,148	T	0,449	0,046	S
478	72091	1,908	0,006	S	0,009	0,422	/	0,251	0,004	/	-0,056	1	/	0,413	0,083	T
S: representa las plantas transgénicas que mostraron mejora de rasgos estadísticamente significativa con respecto a la referencia (p<0,05) T: representa las plantas transgénicas que mostraron una tendencia de mejora de rasgos con respecto a la referencia, preferentemente con p<0,2 /: representa las plantas transgénicas que no mostraron ninguna alteración o tuvieron cambio desfavorable en los rasgos examinados en comparación con la referencia en el presente conjunto de datos.																

I. Cribado de crecimiento y desarrollo temprano de la planta

Este ejemplo expone una plataforma de análisis fenotípico basado en placa para la rápida detección de fenotipos que son evidentes durante las dos primeras semanas de crecimiento. En este cribado los inventores buscaron genes que confirieran ventajas en los procesos de germinación, vigor de los plantones, crecimiento de raíces y morfología de las raíces bajo condiciones de crecimiento no estresadas a las plantas. Las plantas transgénicas con ventajas en el crecimiento y el desarrollo de plantones se determinaron por el peso de los plantones y la longitud de las raíces en el día 14 después de sembrar la semilla.

Se sembraron semillas T2 en placas de selección de glufosinato y se cultivaron bajo condiciones convencionales (~100 uE/m²/s, fotoperiodo de 16 h, 22°C por el día, 20°C por la noche). Las semillas se estratificaron durante 3 días a 4°C. Los plantones se cultivaron verticalmente (a una temperatura de 22°C por el día, 20°C por la noche). Las observaciones se tomaron en el día 10 y el día 14. Tanto el peso de los plantones como la longitud de las raíces en el día 14 se analizaron como respuestas cuantitativas según el Ejemplo 1M.

Tabla 11: Una lista nucleótidos recombinantes que mejoran el crecimiento y el desarrollo temprano de la planta

SEC PÉP ID	Construcción_id	Orientación	Longitud de las raíces en el día 14			Peso de los plantones en el día 14		
			delta	valor de p	c	delta	valor de p	c
241	74518	SENTIDO	0,216	0,01	S	0,454	0,049	S
245	12038	SENTIDO	0,101	0,046	S	0,629	0,003	S
250	14951	SENTIDO	0,15	0,072	T	0,138	0,378	/
260	17928	SENTIDO	0,062	0,22	/	0,246	0,069	T
265	70235	SENTIDO	0,079	0,519	/	0,414	0,026	S
267	72752	SENTIDO	0,301	0,001	S	0,789	0,002	S
285	19179	SENTIDO	0,216	0,024	S	0,603	0,01	S
290	70222	SENTIDO	0,047	0,468	/	0,394	0,014	S
293	70484	SENTIDO	0,068	0,364	/	0,444	0,024	S
294	72474	SENTIDO	0,241	0,051	T	0,183	0,564	/
298	19252	SENTIDO	0,065	0,392	/	0,316	0,054	T
326	17344	SENTIDO	0,042	0,565	/	0,223	0,066	T
330	17906	SENTIDO	0,11	0,152	T	0,419	0,011	S
354	18642	SENTIDO	on	0,247	/	0,257	0,043	S
357	70247	SENTIDO	-0,04	0,842	/	0,237	0,134	T
358	70650	SENTIDO	0,121	0,077	T	0,135	0,442	/
359	11787	ANTISENTIDO	-0,083	0,784	/	0,167	0,365	/
360	13641	ANTISENTIDO	0,092	0,15	T	0,336	0,053	T
361	14515	ANTISENTIDO	0,051	0,616	/	0,351	0,038	S
362	14920	ANTISENTIDO	0,08	0,358	/	0,101	0,739	/
363	15204	ANTISENTIDO	0,203	0,015	S	0,076	0,811	/
364	15216	ANTISENTIDO	0,316	0,023	S	0,632	0,073	T
365	15330	ANTISENTIDO	0,084	0,428	/	0,435	0,002	S
366	19610	SENTIDO	0,192	0,011	S	0,523	0,008	S

(continuación)

SEC PÉP ID	Construcción_id	Orientación	Longitud de las raíces en el día 14			Peso de los plantones en el día14		
			delta	valor de p	c	delta	valor de p	c
367	14338	SENTIDO	0,145	0,155	T	0,589	0,072	T
368	17809	SENTIDO	0,014	0,928	/	-0,121	0,753	/
369	72471	SENTIDO	0,07	0,023	S	0,407	0,048	S
370	16403	SENTIDO	0,199	0,027	S	0,6	0,003	S
371	17737	SENTIDO	0,049	0,472	/	0,242	0,073	T
372	18395	SENTIDO	0,219	0,001	S	0,58	0,002	S
373	72772	SENTIDO	0,224	0,023	S	0,442	0,106	T
374	19441	SENTIDO	0,271	0	S	0,482	0,019	S
375	10486	SENTIDO	0,191	0,03	S	0,343	0,052	T
376	11409	SENTIDO	0,258	0,034	S	0,468	0,006	S
377	12104	SENTIDO	0,1	0,379	/	0,489	0,009	S
378	12258	SENTIDO	0,16	0,05	T	0,392	0,137	T
379	12909	SENTIDO	0,139	0,267	/	0,322	0,261	/
380	14310	SENTIDO	0,544	0	S	0,764	0,026	S
381	14317	SENTIDO	0,134	0,18	T	0,117	0,64	/
382	14709	SENTIDO	0,206	0,009	S	0,389	0,117	T
383	15123	SENTIDO	0,026	0,872	/	0,27	0,348	/
384	16013	SENTIDO	0,046	0,622	/	0,464	0,01	S
385	16185	SENTIDO	0,191	0,045	S	0,145	0,596	/
386	16719	SENTIDO	0,019	0,872	/	0,424	0,088	T
387	17490	SENTIDO	0,186	0,026	S	0,272	0,102	T
388	17905	SENTIDO	0,239	0,004	S	0,346	0,196	T
389	18385	SENTIDO	0,287	0,003	S	0,687	0,003	S
390	18392	SENTIDO	0,088	0,338	/	0,504	0,012	S
392	18531	SENTIDO	0,313	0,015	S	0,627	0	S
393	18603	SENTIDO	0,212	0	S	0,165	0,187	T
394	19530	SENTIDO	0,106	0,137	T	0,342	0,025	S
395	70202	SENTIDO	0,218	0,056	T	0,279	0,223	/
396	72009	SENTIDO	0,191	0,054	T	0,328	0,043	S
397	72119	SENTIDO	0,236	0	S	0,259	0,008	S
438	19249	SENTIDO	0,054	0,375	/	0,222	0,048	S
439	18513	SENTIDO	0,204	0,044	S	0,193	0,322	/

(continuación)

SEC PÉP ID	Construcción_id	Orientación	Longitud de las raíces en el día 14			Peso de los plantones en el día14		
			delta	valor de p	c	delta	valor de p	c
461	19222	SENTIDO	0,255	0,072	T	0,622	0,034	S
473	19077	SENTIDO	-0,049	0,669	/	0,2	0,227	/
474	19178	SENTIDO	0,303	0	S	0,592	0,001	S
477	70809	SENTIDO	0,128	0,093	T	0,224	0,185	T
Para otras respuestas: S: representa las plantas transgénicas que mostraron mejora de rasgos estadísticamente significativa con respecto a la referencia ($p < 0,05$) T: representa las plantas transgénicas que mostraron una tendencia de mejora de rasgos con respecto a la referencia, preferentemente con $p < 0,2$ /: representa las plantas transgénicas que no mostraron ninguna alteración o tuvieron cambio desfavorable en los rasgos examinados en comparación con la referencia en el presente conjunto de datos								

J. Cribado de crecimiento y desarrollo tardío de la planta

Este ejemplo expone una plataforma fenotípica basada en tierra para identificar genes que confieren ventajas en los procesos de desarrollo de las hojas, producción de flores y madurez de la semilla a las plantas.

- 5 Se cultivaron plantas de *Arabidopsis* en una mezcla para macetas comercial (Metro Mix 360, Scotts Co., Marysville, OH) que consistía en 30-40% de vermiculita hortícola de calidad media, 35-55% de musgo de turberas de esfagno, 10-20% de ceniza de corteza procesada, 1-15% de corteza de pino y una carga de nutriente iniciador. La tierra se complementó con fertilizante de liberación controlada Osmocote a una tasa de 30 mg/ft³. Se imbibieron semillas T2 en 1% de disolución de agarosa durante 3 días a 4°C y luego se sembraron a una densidad de ~5 por maceta de 2 1/2". Se ordenaron treinta y dos macetas en una rejilla de 4 por 8 en un terreno plano de invernadero convencional.
- 10 Las plantas se cultivaron en habitaciones medioambientalmente controladas bajo una duración del día de 16 h con una intensidad de luz promedio de ~200 $\mu\text{moles/m}^2/\text{s}$. Los valores de consigna de las temperaturas para el día y la noche fueron 22°C y 20°C, respectivamente. La humedad se mantuvo al 65%. Las plantas se regaron por sub-irrigación cada dos días en promedio hasta la semifloración, momento en el que las plantas se regaron diariamente hasta que se completó la floración.
- 15

La aplicación del herbicida glufosinato se realizó para seleccionar individuos T2 que contenían el transgén diana. Se aplicó una única aplicación de glufosinato cuando las primeras hojas reales fueron visibles. Cada maceta se dejó menos densa para dejar un único plantón resistente a glufosinato ~3 días después de aplicarse la selección.

- 20 El radio de la roseta se midió en el día 25. La longitud de la silicua se midió en el día 40. Las partes de la planta se recogieron en el día 49 para mediciones de peso seco si se detuvo la producción de flores. De otro modo, los pesos secos de las rosetas y silicuas se llevaron a cabo en el día 53. Las semillas se recogieron en el día 58. Todas las mediciones se analizaron como respuestas cuantitativas según el Ejemplo 1M.

Tabla 12: Una lista de nucleótidos recombinantes que mejoran el crecimiento y desarrollo tardío de la planta

SEC PEP ID	construcción_id	Peso seco de la roseta			Radio de la roseta			Peso seco de la semilla			Peso seco de la silicua			Longitud de la silicua		
		delta	valor de p	c	delta	valor de p	c	delta	valor de p	c	delta	valor de p	c	delta	valor de p	c
289	19915	0,234	0,027	S	0,2	0,002	S	0,214	0,142	T	0,165	0,138	T	-0,172	0,863	/
373	72772	0,194	0,291	/	0,022	0,068	T	0,259	0,003	S	0,102	0,343	/	-0,223	0,889	/
403	13958	-0,065	0,797	/	-0,279	0,863	/	0,146	0,041	S	0,092	0,177	T	0,009	0,158	T
405	10483	-0,073	0,946	/	0,302	0,002	S	0,288	0,022	T	0,592	0	S	0,137	0	S
412	12904	0,048	0,131	T	0,149	0,003	S	0,349	0,002	S	0,061	0,066	T	-0,045	0,961	/
419	15142	-0,211	0,945	/	0,074	0,076	T	0,284	0,002	S	-0,088	0,984	/	0,014	0,374	/
424	13005	-0,175	0,954	/	0,091	0,014	S	0,629	0,013	S	0,169	0,106	T	-0,031	0,627	/
425	10203	0,2	0,036	S	-0,023	0,587	/	-0,757	0,922	/	-0,059	0,756	/	0,018	0,15	T
426	11327	-0,046	0,747	/	0,056	0,138	T	0,327	0,08	T	-0,109	0,94	/	0,009	0,142	T
427	11814	-0,127	0,799	/	-0,085	0,866	/	0,397	0,016	S	-0,184	0,91	/	0,05	0,236	/
428	13003	0,004	0,47	/	-0,018	0,589	/	0,78	0,003	S	-0,168	0,939	/	-0,264	0,94	/
429	13949	-0,009	0,538	/	-0,309	0,953	/	0,719	0,008	S	-0,214	0,995	/	0,002	0,476	/
430	16416	0,396	0,001	S	0,099	0,03	S	-0,654	0,999	/	0,034	0,187	T	0,013	0,13	T
431	16438	-0,501	0,802	/	-0,516	0,9	/	0,63	0,021	S	-0,968	0,842	/	-0,461	0,905	/
432	17124	-0,226	0,898	/	-0,022	0,618	/	0,702	0,012	S	-0,479	0,942	/	-0,055	0,99	/
433	19132	0,149	0,133	T	0	0,5	/	-0,229	0,965	/	0,198	0,019	S	-0,232	0,974	/
434	17922	0,206	0,012	S	-0,002	0,52	/	0,541	0,037	S	-0,017	0,757	/	0,028	0,3	/
435	19719	0,301	0,016	S	0,074	0,178	T	-0,395	0,988	/	0,112	0,246	/	-0,031	0,608	/
436	14274	0,03	0,411	/	0,131	0,087	T	0,429	0,009	S	-0,086	0,948	/	-0,181	0,968	/
436	17336	0,425	0,021	S	-0,129	0,934	/	-0,343	0,949	/	0,09	0,143	T	0,018	0,443	/

(continuación)

SEC PÉP ID	construcción _id	Peso seco de la roseta			Radio de la roseta			Peso seco de la semilla			Peso seco de la silicua			Longitud de la silicua		
		delta	valor de p	c	delta	valor de p	c	delta	valor de p	c	delta	valor de p	c	delta	valor de p	c
437	17735	-0,377	0,995	/	-0,194	0,977	/	0,663	0,024	S	-0,315	1	/	-0,024	0,648	/
438	19249	-0,284	0,977	/	-0,166	0,768	/	0,337	0,046	S	-0,101	0,796	/	0,053	0,076	T
439	18513	0,194	0,202	/	0,096	0,112	T	0,248	0,159	T	-0,13	0,676	/	-0,072	0,802	/
440	11517	-0,033	0,586	/	0,073	0,052	T	0,133	0,25	/	0,145	0,217	/	-0,016	0,762	/
441	12363	0,204	0,135	T	-0,087	0,926	/	0,578	0,013	S	0,188	0,053	T	0,036	0,176	T
442	12922	0,202	0,003	S	-0,035	0,928	/	0,453	0,14	T	0,164	0,096	T	0,006	0,298	/
443	15360	0,36	0,018	S	-0,046	0,728	/	-0,141	0,75	/	0,07	0,05	T	0,049	0,099	T
444	16028	0,341	0,032	S	-0,036	0,548	/	0,044	0,403	/	0,18	0,034	S	-0,015	0,604	/
445	16648	-0,49	0,989	/	0,033	0,374	/	0,471	0,025	S	-0,169	0,8	/	0,018	0,228	/
446	16705	0,227	0,072	T	-0,168	0,985	/	0,502		S	-0,228	0,996	/	-0,045	0,932	/
447	16715	0,011	0,442	/	0,059	0,161	T	0,485	0,042	S	-0,087	0,724	/	0,058	0,03	S
448	17316	-0,047	0,812	/	0,047	0,08	T	0,109	0,391	/	-0,172	0,747	/	0,229	0,008	S
449	17331	-0,451	0,979	/	-0,156	0,916	/		0,001	S	-0,11	0,761	/	0,043	0,069	T
450	17339	0,306	0,026	S	0,152	0,024	S	-0,738	0,936	S	0,095	0,369	/	0,008	0,356	/
451	17420	-0,171	0,931	/	-0,242	0,856	/	0,828	0,015	S	-0,291	0,817	/	-1,008	0,898	/
452	17446	-0,226	0,909	/	-0,038	0,673	/	0,302	0,026	S	0,145	0,118	T	-0,001	0,522	/
453	17487	-0,331	0,966	/	0,074	0,016	S	0,479	0,045	S	-0,209	0,995	/	0,04	0,132	T
454	17740	-0,036	0,641	/	0,016	0,414	/	0,763	0,057	T	0,087	0,15	T	0,095	0	S
455	17752	0,35	0,041	S	-0,107	0,673	/	-0,619	0,915	/	0,343	0,004	S	0,022	0,294	/

(continuación)

SEC PEP ID	construcción_id	Peso seco de la roseta			Radio de la roseta			Peso seco de la semilla			Peso seco de la silicua			Longitud de la silicua		
		delta	valor de p	c	delta	valor de p	c	delta	valor de p	c	delta	valor de p	c	delta	valor de p	c
456	18021	-0,252	0,947	/	-0,131	0,836	/	0,287	0,079	T	-0,249	0,685	/	-0,018	0,64	/
457	18245	-0,227	0,99	/	-0,031	0,629	/	0,422	0,011	S	-0,126	0,758	/	-0,048	0,827	/
458	18617	-0,193	0,955	/	-0,3	0,95	/	0,877	0,001	S	-0,328	0,971	/	0,075	0,077	T
459	18734	0,248	0,043	S	0,033	0,192	T	-0,959	0,981	/	0,059	0,146	T	-0,012	0,618	/
460	18823	0,229	0,114	T	0,069	0,181	T	-0,056	0,677	/	0,282	0,048	S	0,032	0,24	/
461	19222	0,591	0,014	S	0,045	0,304	/	-0,258	-0,767	/	0,156	0,1	T	-0,076	0,698	/
462	19430	0,362	0,024	S	-0,02	0,776	/	-0,751	0,857	/	0,036	0,281	/	-0,231	0,848	/
S: representa las plantas transgénicas que mostraron mejora de rasgos estadísticamente significativa con respecto a la referencia (p<0,05) T: representa las plantas transgénicas que mostraron una tendencia de mejora de rasgos en comparación con la referencia, preferentemente con p<0,2 /: representa las plantas transgénicas que no mostraron ninguna alteración o tuvieron cambio desfavorable en los rasgos examinados en comparación con la referencia en el presente conjunto de datos																

K. Cribado de tolerancia a bajo nitrógeno

Bajo condiciones de bajo nitrógeno, los plantones de *Arabidopsis* se vuelven cloróticos y tienen menos biomasa. Este ejemplo expone el cribado de tolerancia a bajo nitrógeno para identificar plantas de *Arabidopsis* transformadas con el gen de interés que están alteradas en su capacidad para acumular biomasa y/o retener clorofila bajo condición de bajo nitrógeno.

5

Se sembraron semillas T2 en placas que contenían 0,5x medio Hoagland libre de N T NH_4NO_3 0,1 mM T 0,1% de sacarosa T 1% de Phytigel y se cultivaron bajo condiciones de luz y temperatura convencionales. A los 12 días de crecimiento, las plantas se puntuaron para el estado de los plantones (es decir, viables o no viables) y la longitud de las raíces. Después de 21 días de crecimiento, las plantas se puntuaron para color visual, peso de los plantones, número de hojas verdes, número de hojas en la roseta, longitud de las raíces y formación de capullos en floración. También se tomó una fotografía de cada planta en este momento de tiempo.

10

El peso de los plantones y la longitud de las raíces se analizaron como respuestas cuantitativas según el Ejemplo 1M. El número de hojas verdes, el número de hojas en la roseta y la formación de capullos de flores se analizaron como respuestas cualitativas según el Ejemplo 1L. Los inventores consideraron que las plantas transgénicas crecieron mejor bajo la condición de bajo nitrógeno evidenciado porque tienen más hojas verdes u hojas más verdes en comparación con la referencia. Además, el cambio en la longitud de las raíces en cualquier dirección, es decir, tanto aumento como disminución, beneficiará el crecimiento de la planta. Las plantas transgénicas con aumento de la longitud de las raíces bajo una condición de bajo nitrógeno permitirán que las plantas obtengan nutriente de una distancia más alejada, mientras que las plantas transgénicas con disminución de la longitud de las raíces, a la vez que mantiene un crecimiento sano evidenciado por las hojas verdes, pueden haber desarrollado un mecanismo intrínseco de usar eficientemente fuente de nitrógeno .

15

20

Tabla 13: Una lista de nucleótidos recombinantes que mejoran la tolerancia a la disponibilidad de bajo nitrógeno en plantas

SEC PÉP ID	Construcción_id	Formación de capullos de flores			Número de hojas verdes			Longitud de las raíces			Número de hojas en la roseta en el día 21			Peso de la roseta		
		media RS	valor de p	c	media RS	valor de p	c	delta	valor de p	c	media RS	valor de p	c	delta	valor de p	c
241	74518	-0,141	0,97	/	-0,123	1	/	0,097	0,006	T	-0,532	0,983	/	0,104	0,007	S
315	12627	-0,881	1	/	1,713	0,001	S	-0,222	0,052	S	1,622	0,008	S	-0,037	0,136	/
316	12813	-1,269	1	/	1,151	0,011	S	-0,01	0,89	/	1,858	0,001	S	0,14	0	S
317	14945	-1,131	1	/	0,899	0,014	S	-0,056	0,486	/	0,305	0,289	/	-0,038	0,587	/
318	15345	-0,158	0,626	/	0,961	0,014	S	-0,352	0,004	S	-0,308	0,739	/	0,069	0,297	/
319	15348	-0,582	0,937	/	0,755	0,015	S	-0,17	0,082	T	0,923	0,046	S	-0,033	0,214	/
320	16325	-0,947	0,999	/	0,995	0,003	S	-0,204	0,079	T	1,15	0,01	S	-0,014	0,652	/
321	16702	-0,315	0,997	/	0,567	0,023	S	0,16	0,01	S	0,572	0,071	T	0,012	0,614	/
322	16836	-1,291	1	/	0,149	0,098	T	0,141	0,029	S	2,117	0	S	0,035	0,247	/
323	17002	-1,153	1	/	0,32	0,013	S	0,209	0,007	S	1,818	0,001	S	0,131	0	S
324	17012	-1,201	1	/	0,348	0,025	S	0,291	0,002	S	1,485	0,001	S	0,082	0,107	T
325	17017	-0,352	1	/	0,982	0,003	S	-0,112	0,159	T	0,276	0,127	T	-0,009	0,725	/
326	17344	-1,897	1	/	0,736	0,039	S	0,111	0,181	T	1,344	0,02	S	0,076	0,001	S
327	17426	-1,364	1	/	1,185	0,002	S	-0,218	0,008	S	0,814	0,094	T	-0,076	0,034	/
328	17655	-1,059	1	/	1,094	0,002	S	-0,084	0,208	/	1,656	0	S	0,024	0,637	/
329	17656	-1,309	1	/	0,465	0,04	S	0,107	0,228	/	1,317	0,001	S	-0,046	0,058	/
330	17906	-1,21	1	/	0,058	0,369	/	0,213	0	S	1,251	0,006	S	0,057	0,262	/
331	18278	0,025	0,45	/	0,838	0,003	S	0,04	0,592	/	2,056	0,001	S	0,016	0,667	/
332	18822	-0,47	1	/	0,697	0	S	0,189	0,29	S	1,17	0,001	S	0,048	0,07	T
333	18881	1,062	0,022	S	-0,365	0,949	/	0,08	0,211	/	-1,211	1	/	0,006	0,845	/
334	19213	-0,095	0,712	/	-0,298	1	/	0,18	0,001	S	-0,802	1	/	0,056	0,062	T
335	19239	-0,187	0,931	/	1,466	0	S	-0,104	0,186	T	1,297	0,006	S	-0,048	0,187	/
336	19247	-0,346	0,913	/	0,274	0,022	S	0,013	0,833	/	1,818	0,001	S	0,088	0,216	/

(continuación)

SEC PÉP ID	Construcción_id	Formación de capullos de flores			Número de hojas verdes			Longitud de las raíces			Número de hojas en la roseta en el día 21			Peso de la roseta		
		media RS	valor de p	c	media RS	valor de p	c	delta	valor de p	c	media RS	valor de p	c	delta	valor de p	c
337	19460	-0,526	0,994	/	1,427	0	S	-0,004	0,932	/	0,952	0,01	S	0,003	0,952	/
338	19512	-0,546	1	/	1,611	0	S	0,152	0,011	S	0,824	0,001	S	0,041	0,226	/
339	19533	-0,283	0,929	/	1,909	0	S	0,072	0,353	/	1,904	0,001	S	-0,002	0,952	/
340	19603	-0,25	0,932	/	0,287	0,213	/	0,208	0,005	s	0,234	0,214	/	0,135	0,021	S
341	72126	0,337	0,017	S	-0,447	0,944	/	-0,149	0,059	T	0,23	0,147	T	0,253	0	S
342	72437	0,907	0,016	S	-0,36	0,989	/	0,111	0,049	S	-0,689	0,999	/	0,09	0,005	S
343	72441	0,354	0,011	S	0,57	0,002	S	-0,115	0,078	T	0,269	0,124	T	-0,041	0,361	/
344	72639	0,578	0,065	T	-0,198	0,956	/	0,23	0,001	S	-0,181	0,756	/	0,13	0,005	S
364	19058	1,236	0,008	S	-0,087	0,974	/	-0,103	0,244	/	-0,326	0,94	/	0,123	0,066	T
370	16403	-0,972	1	/	0,63	0,023	S	-0,182	0,006	S	1,751	0,002	S	-0,028	0,202	/
371	17737	-1,124	1	/	0,352	0,038	S	0,059	0,512	/	1,404	0,017	S	-0,038	0,381	/
372	18395	-0,567	1	/	0,522	0,023	S	0,182	0,004	S	0,935	0,007	S	0,027	0,318	/
373	72772	0,439	0,019	S	-0,113	0,827	/	0,211	0,006	S	-0,141	0,739	/	0,106	0,006	S
376	11409	0,001	0,498	/	0,327	0,094	T	-0,069	0,316	/	0,264	0,287	/	0,008	0,843	/
438	19249	-0,834	1	/	0,257	0,058	T	0,061	0,25	/	1,01	0,004	S	0,038	0,438	/
478	72091	-0,803	1	/	-0,273	1	/	0,526	0	S	1,033	0,029	s	0,167	0,003	S

S: representa las plantas transgénicas que mostraron mejora de rasgos estadísticamente significativa con respecto a la referencia (p<0,05)
T: representa las plantas transgénicas que mostraron una tendencia de mejora de rasgos en comparación con la referencia, preferentemente con p<0,2
/: representa las plantas transgénicas que no mostraron ninguna alteración o tuvieron cambio desfavorable en los rasgos examinados en comparación con la referencia en el presente conjunto de datos

L. Análisis estadístico para respuestas cualitativas

Tabla 14: Una lista de respuestas analizadas como respuestas cualitativas

repuesta	cribado	categorías (éxito frente a fracaso)
puntuación de riesgo de respuesta de marchitamiento	cribado de tolerancia a la sequía	marchitadas frente a no marchitadas
estado de crecimiento en el día 14	cribado de tolerancia al estrés por calor	el 50% de plantas alcanza el estado 1,03 frente a no
estado de crecimiento en el día 14	cribado de tolerancia al estrés por sales	el 50% de plantas alcanza el estado 1,03 frente a no
estado de crecimiento en el día 14	cribado de tolerancia al estrés osmótico inducido por PEG	el 50% de plantas alcanza el estado 1,03 frente a no
estado de crecimiento en el día 7	cribado de tolerancia al estrés por germinación con frío	el 50% de plantas alcanza el estado 0,5 frente a no
número de hojas en la roseta en el día 23	cribado de tolerancia a la sombra-luz tenue	aparecieron 5 hojas frente a no
formación de capullos de flores en el día 23	cribado de tolerancia a la sombra-luz tenue	aparecieron capullos de flores frente a no
ángulo de la hoja en el día 23	cribado de tolerancia a la sombra-luz tenue	>60 grados frente a <60 grados
número de hojas verdes en el día 21	cribado de tolerancia a bajo nitrógeno	aparecieron 6 ó 7 hojas frente a no
número de hojas en la roseta en el día 21	cribado de tolerancia a bajo nitrógeno	aparecieron 6 ó 7 hojas frente a no
formación de capullos de flores en el día 21	cribado de tolerancia a bajo nitrógeno	aparecieron capullos de flores frente a no

- Las plantas se agruparon en grupos transgénicos y de referencia y se puntuaron como éxito o fracaso según la Tabla 14. Primero se calculó el riesgo (R), que es la proporción de plantas que se puntuaron como plantas de fracaso dentro del grupo. Luego se calculó el riesgo relativo (RR) como la relación de R (transgénicos) con respecto a R (referencia). La puntuación de riesgo (PR) se calculó como $-\log_2^{RR}$. Posteriormente, las puntuaciones de riesgo de múltiples eventos para cada transgén de interés se evaluaron para significancia estadística por la prueba de la t usando el software estadístico S-PLUS (S-PLUS 6, Guide to statistics, Insightful, Seattle, WA, EE.UU.). La PR con un valor superior a 0 indica que las plantas transgénicas rinden mejor que la referencia. La PR con un valor inferior a 0 indica que las plantas transgénicas rinden peor que la referencia. La PR con un valor igual a 0 indica que el rendimiento de las plantas transgénicas y la referencia no muestra ninguna diferencia.

M. Análisis estadístico para respuestas cuantitativas

Tabla 15: Una lista de respuestas analizadas como respuestas cuantitativas

respuesta	cribado
rendimiento de las semillas	cribado de tolerancia al estrés por sequía
peso de los plántones en el día 14	cribado de tolerancia al estrés por calor
longitud de las raíces en el día 14	cribado de tolerancia al estrés por calor
peso de los plántones en el día 14	cribado de tolerancia al estrés por sales
longitud de las raíces en el día 14	cribado de tolerancia
longitud de las raíces en el día 11	cribado de tolerancia al estrés por sales
peso de los plántones en el día 14	cribado de tolerancia al estrés osmótico inducido por PEG

(continuación)

respuesta	cribado
longitud de las raíces en el día 11	cribado de tolerancia al estrés osmótico inducido por PEG
longitud de las raíces en el día 14	cribado de tolerancia al estrés osmótico inducido por PEG
área de la roseta en el día 8	cribado de tolerancia al choque al frío
área de la roseta en el día 28	cribado de tolerancia al choque al frío
diferencia en el área de la roseta del día 8 al día 28	cribado de tolerancia al choque al frío
longitud de las raíces en el día 28	cribado de tolerancia al estrés por frío
peso de los plántones en el día 23	cribado de tolerancia a la sombra-luz tenue
longitud del peciolo en el día 23	cribado de tolerancia a la sombra-luz tenue
longitud de las raíces en el día 14	cribado de crecimiento y desarrollo temprano de la planta
peso de los plántones en el día 14	cribado de crecimiento y desarrollo temprano de la planta
radio de la roseta en el día 25	cribado de crecimiento y desarrollo tardío de la planta
peso seco de la semilla en el día 58	cribado de crecimiento y desarrollo tardío de la planta
peso seco de la silicua en el día 53	cribado de crecimiento y desarrollo tardío de la planta
longitud de la silicua en el día 40	cribado de crecimiento y desarrollo tardío de la planta
peso de los plántones en el día 21	cribado de tolerancia a bajo nitrógeno
longitud de las raíces en el día 21	cribado de tolerancia a bajo nitrógeno

Las mediciones (M) de cada planta se transformaron por cálculo de \log_2 . La delta se calculó como $\log_2 M(\text{transgénico}) - \log_2 M(\text{referencia})$. Posteriormente, la delta media de múltiples eventos del transgén de interés se evaluó para significancia estadística por la prueba de la t usando el software estadístico S-PLUS (S-PLUS 6, Guide to statistics, Insightful, Seattle, WA, EE.UU.). Delta con un valor superior a 0 indica que las plantas transgénicas rinden mejor que la referencia. Delta con un valor inferior a 0 indica que las plantas transgénicas rinden peor que la referencia. Delta con un valor igual a 0 indica que el rendimiento de las plantas transgénicas y la referencia no muestra ninguna diferencia.

Ejemplo 2 Identificación de Homólogos

Se construyó una “Base de datos de todas las proteínas” que podía buscarse con BLAST a partir de secuencias de proteínas conocidas usando una base de datos de secuencias patentada y la base de datos de aminoácidos no redundantes (aa nr) del Centro nacional de información biotecnológica (NCBI). Para cada organismo a partir del cual se obtuvo una secuencia de ADN proporcionada en el presente documento se construyó una “Base de datos de proteínas de organismos” de secuencias de proteínas conocidas del organismo; la Base de datos de proteínas de organismos es un subconjunto de la Base de datos de todas las proteínas basado en la ID de taxonomía de NCBI para el organismo.

La Base de datos de todas las proteínas se consultó usando la secuencia de aminoácidos de proteína relacionada para el ADN de gen usado en el ADN recombinante que mejora rasgos, es decir, secuencias de SEC ID N°: 240 a SEC ID N°: 478 usando “blastp” con corte del valor de e de $1e-8$. Se mantuvieron hasta 1000 éxitos principales y se separaron por nombres de organismos. Para cada organismo distinto del de la secuencia de consulta se mantuvo una lista para éxitos del propio organismo de consulta con un valor de e más significativo que el mejor éxito del organismo. La lista contiene genes probablemente duplicados, y se denomina la Lista núcleo. Se mantuvo otra lista para todos los éxitos de cada organismo, clasificada por valor de e, y denominada la Lista de éxitos.

La Base de datos de proteínas de organismos se consultó usando secuencias de aminoácidos de SEC ID N°: 240 a SEC ID N°: 478 usando “blastp” con corte del valor de e de $1e-4$. Se mantuvieron hasta 1000 éxitos principales. Se construyó una base de datos que podía buscarse con BLAST basándose en estos éxitos, y se denomina “SubDB”. SubDB se consultó con cada secuencia en la Lista de éxitos usando “blastp” con corte del valor de e de $1e-8$. El éxito con el mayor valor de e se comparó con la Lista núcleo del organismo correspondiente. Se considera que el éxito es un ortólogo probable si pertenece a la Lista núcleo, de otro modo no se considera que sea un ortólogo

probable y no hay más búsqueda de secuencias en la Lista de éxitos para el mismo organismo. Se identificaron ortólogos probables de un gran número de organismos distintos y se informan por secuencias de aminoácidos de SEC ID N°: 479 a SEC ID N°: 12463. Estos ortólogos se informan en las Tablas 2 como homólogos a las proteínas relacionadas con genes usados en ADN recombinante que mejora rasgos.

5 Ejemplo 3 Construcción de la secuencia consenso

Se seleccionó el programa ClustalW para alineamientos de múltiples secuencias de la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 439 y 25 homólogos. Los tres factores principales que afectan espectacularmente los alineamientos de secuencias son (1) matrices de peso de proteínas; (2) penalización por abertura de hueco; (3) penalización por extensión de hueco. Las matrices de peso de proteínas disponibles para el programa ClustalW incluyen las series 10 Blosum, Pam y Gonnet. Se probaron ampliamente aquellos parámetros con penalización por abertura de hueco y penalización por extensión de hueco. Basándose en los resultados de prueba, la matriz de pesos de Blosum, la penalización por abertura de hueco de 10 y la penalización por extensión de hueco de 1 se eligieron para el alineamiento de múltiples secuencias. Se adjuntan las secuencias de SEC ID N°: 439, sus homólogos y la secuencia consenso en el extremo. Los símbolos para la secuencia consenso son (1) letras en superíndice para el 100% de 15 identidad en todas posiciones de la salida de alineamiento de múltiples secuencias; (2) letras en subíndice para $\geq 70\%$ de identidad; símbolo; (3) "X" indicó $< 70\%$ de identidad; (4) los guiones "-" que significan que los huecos estuvieron en $\geq 70\%$ de las secuencias.

```

SEC ID N° :
5211 :-----
12100 :-----
6033 :-----
5630 :-----
2801 :-----
11474 :-----
12365 :-----
9090 :-----
439 :-----
11419 :-----
11201 :-----
4683 :-----
1624 :-----
11490 :-----
9137 :-----
10769 :MIGTRVLAHSRVDPAIRWGVAARGRVVFAAIRWGAAARGRVVFAAVRWGAAARGTKREAG
2036 :-----
1472 :-----
2526 :-----
12153 :-----
2333 :-----
8918 :-----
12149 :-----
6330 :-----
11407 :-----
9050 :-----
consenso :-----
12464

-----MSCFACCGDEDTQ-VPDTRAQYPGHH PAR-----
-----MSCFACCGDEDTQ-VPDTRAQYPGHH PAR-----
-----MSCFACCGDEDTQ-VPDTRAQYPGHH PAR-----
-----MSCFACCGDEDTQ-VPDTRTQYPGHH PAR-----
-----MSCFACCGDEDTQGVPDNRNPYPGNH PAR-----
-----MSCLACCGGEDTORTPDNGGPPYPGGY PPR-----
-----MSCLACCGGEDTORTPDNGGPPYPGGY PPR-----
-----MSCFVCCGDEDTQAPDNRNQYXKAI QQG-----
-----MSCFGCCGEDDDMHKTADYGGRRHNQAKHFP PG-----
-----MSCFSCCDDDDMHRATDNGPFFMAHNSAGN-----
-----MSCFSCCDDDDMHRATDNGPFFMAHNSAGN-----
-----MGCFSCCGADDVGKKKKRDPYPVIPDPG--G-----
-----MGFLCCSGKPSKRLESSINENNNSNIKRKDQTHVTSGLKM
-----MGFLCFSGKSSKRSENSSIDENNNSNIKRKDQTLTSGSMKV
-----MGWI PCSGKSSGKTKKRSDDENLSRNCVSASERS-----
QETSTSETKKTKRKWGRGFCGMASHEVEEPLTSETKKTKRKWGRGFCGMASHEAEEPLTS
-----MKILLGVGINGGLFGSCVSRSKVDSSTSGISSHFEIKSTN-----

```

[illegible]

ES 2 392 332 T3

FHIGLGGFGKVYRGVLRDG-----TKVALKRCRK-ESSQGIEEFRTETIELSFCS
 FHIGLGGFGKVYRGVLRDG-----TKVALKRCRK-ESSQGIEEFQTEIELISFCS
 SLIGLGGFGTVYRGVLRCDG-----TKVALKRCRK-ESSQGIEEFQTEIEMLSHFR
 NQLGRGGFGFPVYLGLKDDG-----RKVAVKQLSVGSGQSGESEFMEVNMITSIQ
 xxigxgxfgvvyxGvlxxg-----xxxxxKxxxx-xxxxxxxxxxxxxxxxxxxx

HENVVELLGYCADGTLRLVLAIEFATMGSLSHDLHGRKGVKG-AQPGPVLWSQQRVKIAVG
HENXVELLGYCXDGTLRLVLAIEFATMGSLSHDLHGRKGVKG-AQPGPVLXWSQQRXKIAVG
HENVVELLGYCADGTLRLVLAIEFATMGSLSHDLHGRKGVKG-AQPGPVLWSQQRVKIAVG
HENVVELLGYCADGTLRLVLAIEFATMGSLSHDLHGRKGVKG-AQPGPVLWSLQQRVKIAVG
HEHVVELLGYCDGNLRLVLAIEFATMGSLSHDLHGRKGVKG-AQPGPVLWSAQQRVKIAVG
HGNVVELLGYCDGNLRLVLAIEFATMGSLSHDLHGRKGVKG-AQPGPVLWSQQRVKIAVG
HGNVVELLGYCDGNLRLVLAIEFATMGSLSHDLHGRKGVKG-AQPGPVLWSQQRVKIAVG
HENVVELLGYCDGNLRLVLAIEFATMGSLSHDLHGRKGVKG-AQPGPVLWSQQRVKIAVG
HDFVQLLGYCDGNLRLVLAIEFATMGSLSHDLHGRKGVKG-AQPGPVLWSYQQRVKIAVG
DENVVELLGYCDGGRVLAIEYAPNGSLHDILHGRKGVKG-AQPGPVLWSAQQRVKIAVG
DENVELLGYCDGGRVLAIEYAPNGSLHDILHGRKGVKG-AQPGPVLWSAQQRVKIAVG
HENI IQLTGYCAGGSI RVLAYEYAPRGSLSHDILHGKKGVKG-AQGPALSMQWRKIALS
HPNLVKLIGFCAEGDQRLLVYEYMPLGSLSLNLHDIP-----PNRQPLDWNTRMKIAAG
PNPLVKLIGFCAEGDQRLLVYEYMPLGSLSLNLHDIP-----PNRQPLDWNARMKIAAG
HPNLVNLIGYCADGQRLLVYEYMPLGSLSLNLHDIS-----PSKQPLDWNTRMKIAAG
HPNLVTLIGYCTCDQKILVYEYMPLGSLSQDHLDLT-----PKSQPLSWHTRMKIAVD
PNPLVKLIGYCTEDDQRLLVYEYMPLGRSLSLNLHFR-----SLPLPWSIRMKIALG
HPHLVSLTGYCDERNEMILIYDMENGNLKSHLYG-----SDLPMSWEQRLICIG
HPHLVSLTGYCDERNEMILIYKYMENGNLKSHLYG-----SDLPMSWEQRLICIG
HPHLVSLIGYCDGRNEMILIYDMENGNLKSHLYG-----SDLPMSWEQRLICIG
HPHLVSLTGYCDERNEMILIYEMENGNLKSHLYG-----SDLPMSWEQRLICIG
HPHLVSLIGYCDETNMILVYDIENGNLRSLYG-----PDLPTMSWEQRLICIG
HPHLVSLIGYCDETNMILVYDIENGNLRSLYG-----PDLPTMSWEQRLICIG
HPHLVSLTGYCDERNEMILVYDIENGNLRSLYG-----SDLPMSWEQRLICIG
HPYLVSLTGYCDENNTLLIKYKYMENGLSSHLHYG-----SYLPTMWEQRLICIG
HKNLVSLIGYCCSENVTLVYEMKNSLSLILFAAADAPASAPPTFNWRTRHOIIG
hxxxxLxGyCxxxxxxLxeyxxxxgxLxxxLgxxxxxx-xxxxpxsxWqrxxiixg

[illegible]

ES 2 392 332 T3

aaxGLxyLHxxxxxxxxihRDxKssNxllxxxxvxKixDFxlsxx-xxxxxxxxxsTxvxG

```
TFGYHAPEYAMTGQLSSKSDVYSFGVVLELLLTGRKVPVDHTLPRGQSSLVTWATPRLSED
TFGYHAPEYAMTGQLSSKSDVYSFGVVLELLLTGRKVPVDHTLPRGQSSLVTWATPXLSED
TFGYHAPEYAMTGQLSSKSDVYSFGVVLELLLTGRKVPVDHTLPRGQSSLVTWATPRLSED
TFGYHAPEYAMTGQLSSKSDVYSFGVVLELLLTGRKVPVDHTLPRGQSSLVTWATPRLSED
TFGYHAPEYAMTGQLSSKSDVYSFGVVLELLLTGRKVPVDHTLPRGQSSLVTWATPRLSED
TFGYHAPEYAMTGQLSSKSDVYSFGVVLELLLTGRKVPVDHTLPRGQSSLVTWATPRLCED
TFGYHAPEYAMTGQLSSKSDVYSFGVVLELLLTGRKVPVDHTLPRGQSSLVTWATPRLSED
TFGYHAPEYAMTGPLSSKSDVYSFGVVLELLLTGRKVPVDHTLPRGNR-VCYLGNARLSFD
TFGYHAPEYAMTGPLSTSDVYSFGVVLELLLTGRKVPVDHTLPRGQSSLVTWATPRLSED
TYGYCAPDYAMTGLTIKFSDIYSFGVVLELLITGRKAIDQRKERGEQNVLVAWRPMFKDR
TYGYCAPDYAMTGLTIKFSDVYSFGVVLELLITGRKAIDQTKERSEQNVLVAWRPMFKDR
TYGYCAPEYMTGTLTKSDVYSFGVVLELIITGRKAIDNSCRTGEQNVLVAWRPLFKDR
TYGYCAPEYAMSGKLTKMSDIYCFGVVLELIITGRRAIDTPKTPTREQLLVHWAAPLFKDK
TYGYAAPEYVMTHLSSKSDVYSFGVVLEMLLTGRSRMDKKRPNGEHNVLVEWARPHLGRN
TFGYLDPEYFIKRLTEKSDVYSFGVVLFEVLCARSAIVQSLPREMNVLAEWAVESHNNG
TLGYLDPEYFIKRLTEKSDVYSFGVVLFEVLCARSAIVQSLPREMNVLAEWAVESHNNG
TFGYIDPEYFIKRLTEKSDVYSFGVVLFEVLCARSAIVQSLPSEMNVLAEWAVESHNNG
TVGYLDPEYFIKRLTEKSDVYSFGVVLFEVLCARPAIAHSHREMTSLAEWAVESHNNG
TIGYLDPEYFIRGQLTEKSDVYSFGVVLFEVLCARPAIVQSLPREMNVLAEWAVDSHNKG
TIGYLDPEYFIRGQLTEKSDVYSFGVVLFEVLFAIPAIVQSLPREMVSLAEWAVDSHNKG
TIGYLDPEYFIRGQLTEKSDVYSFGVVLFEVLCARPAIVQSLPREMNVLAEWAVDSHNKG
TLGYTAPEYAIRGELTKEDSVYSFGVVLFEVLKARSIVAHIISKGLTVLAEWAVDSHKKG
TLGYTAPEYAIRGELTKEDSVYSFGVVLFEVLKARSIVAHIISKRNDINLMEMOYLPHEAWRLYEQS
TxGYxxPeYxxxGqLxxxsDvYsFGVvlxexlxRxXXXXxlprxxxxlxxwaxxxxxxx
```

```

K-VRQCVD SRLGGD--YPPKAVAKFAA VAAALCVQYEADFRPNMSIVVKALQPLLNAAHAR-
K-VRQCVD SRLGGD--YPPKAVAKFAA VAAALCVQYEADFRPNMSIVVKALQPLLNAAACAG
K-VRQCVD SRLGGD--YPPKAVAKFAA VAAALCVQYEADFRPNMSIVVKALQPLLNAAHAR-
K-VRQCVD SRLGGD--YPPKAVAKFAA VAAALCVQYEADFRPNMSIVVKALQPLLNAAHARA
K-VRQCVD SRLGGD--YPPKAVAKFAA VAAALCVQYEADFRPNMSIVVKALQPLLNARAATN
K-VRQCVD SRLGVE--YPPKSAKFAA VAAALCVQYEADFRPNMSIVVKALQPLLNARASN
K-VRQCVD SRLGVE--YPPKSAKFAA VAAALCVQYEADFRPNMSIVVKALQPLLNARASN
K-VRQCVD SRLGGD--YPPKAVAKFAA VAAALCVQYEADFRPNMSIVVKALQPLLNARA AH
K-VQCV DARLGGD--YPPKAVAKFAA VAAALCVQYEADFRPNMSIVVKALQPLLNARA VA
K-VQCV DARLNTD--YPPKATAKMAA VAAALCVQYEADFRPNMSIVVKALQPLLRPPRVPS
K-VQCV DARLNTD--YPPKATAKMAA VAAALCVQYEADFRPNMSIVVKLFLSCLCLDLQV
K-VQCV DPRELGGD--YPPKAVAKMAA VAAALCVQYEADFRPNMSIVVKALPNLNRSPNN
RNFSGMVDPLLQGG--YPIRGILYQALAI AAMCVQEQPNMRPAVSDVLVMA LNYLASHKYDP
RNFSGMVDPLLQGG--YPIRGILYQALAI AAMCVQEQPNMRPAVSDVLVMA LNYLASHKYDP
RKFQSMADPFMIQGG--YPPRGILYQALAAVMA CVQEQPNLRPAVTDVLTALTYL LASHQFDP
KKFFTKMADPLDLSK--YPLKGLYQALAI SSMCLQE EASIRPLI SDVVTALTFLADPNYDP
RRFYRLIDPRLEGH--FSIKGAQKAAGTAVKCLSRDPKARPLSMGVVDC LKPLALQDMA
Q-LEQI IDPNLADK--ITPESLRKFGETA VKCLALSSDRP SMGVDLWKLEYA IRLQESV
Q-LEQI IDPNLADK--ITPESLRKFGETA VKCLALSSDRP SMGVDLWKLEYA IRLQESV
Q-LEQI IDPNLAAK--ITPESLRKFGETA VKCLALSSDRP SMGVDLWKLEYA IRLQESV
Q-LEQI IDPNLAAK--ITPESLRKFGETA VKCLALSSDRP SMGVDLWKLEYA IRLQESV
H-LEQI IDPDLAAK--ITPESLRKFGETA VKCLALSSDRP SMGVDL-----
Q-LEQI IDPDLAAK--ITPESLRKFGETA VKCLALSSDRP SMGVDL-----
Q-LEQI IDPNLAAK--ITPESLRKFGETA VKCLALSSDRP SMGVDL-----
Q-LEQI IDPNLAAK--ITPESLRKFGETA VKCLALSSDRP SMGVDL-----
Q-LEQI IDPNLASK--ITPEIKYLNKFGETA VKCLALSGVDRPSMGVDL-----
K-LIELVDGRVQGGEGFE EKVMQLQVQIALLCVQYPNRPMSVVRMLTKMDQSI PA
x-xxqxxdxx1xxx--xxpxxxxxkxxxxaxxCxxxxxxRpxmxxvxx1xxx xxxxxxxx

```

ATNPGEHAGS-----
RPNPGEHAGS-----


```

ATNPGEHAGS-----
TNP-----
PGENAGS-----
NPG-----
NPG-----
PGAEGHAGR-----
PGEGVH-----
-----
RHQACEFSPPCLYVMK-----
RPASFTDAGERSGL-----
---QVHSVQDSRRSPSRPGLDKDRGQ---
---QIHFPKDPRRRPSHPGLDKDNGRT---
---MSQPVQGSFLGPGTTPRSKRVV---
---PDDIEPLPISVPNYDKGISLREAEISLSGFEEKQVEDS---
GPSYYLQTVQPERAGSSDPNRTRVGSFSRNGSQHPRTLSPNASPRHNQFLQDSPNPNKGQ
I-----
I-----
I-----
I-----
-----
-----
-----
PAKPAFLDRKNLNGDRDAASSDTATMEMMRSPAGYWMMTPSPMLEVDRPYDMSFGK-----
XXXXXXXXXXXXX-----

```

Ejemplo 4 Construcción de transformación de maíz

Los vectores de destino GATEWAY™ (disponibles de Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA) se construyeron para inserción de ADN que mejora rasgos para la transformación de maíz. Los elementos de cada vector de destino se resumen en la Tabla 16 más adelante e incluyen una región de transcripción del marcador de selección y una región de transcripción de la inserción de ADN. La región de transcripción del marcador de selección comprende un promotor 35S del virus del mosaico de la coliflor operativamente ligado a un gen que codifica neomicina fosfotransferasa II (*neptII*), seguido de tanto la región de 3' del gen nopalina sintasa de *Agrobacterium tumefaciens* (*nos*) como de la región 3' del gen inhibidor II de proteinasa de patata (*pinII*). La región de transcripción de la inserción de ADN comprende un promotor de actina 1 de arroz, un potenciador 1 del intrón 1 del exón 1 de actina de arroz, un sitio de inserción flanqueado por *att* y la región 3' del gen *pinII* de patata. Siguiendo procedimientos convencionales proporcionados por Invitrogen, la región de inserción flanqueada por *att* se sustituye por recombinación con ADN que mejora rasgos, en una orientación sentido para la expresión de una proteína que mejora rasgos y en una orientación de supresión de genes (es decir, orientación tanto antisentido como en una orientación sentido y antisentido) para una supresión que mejora rasgos de una proteína. Aunque el vector con ADN que mejora rasgos insertado en la región de inserción flanqueada por *att* es útil para la transformación de plantas por administración de ADN directo, tal como bombardeo con microproyectiles, es preferible bombardear tejido de planta diana con unidades de transcripción en tándem que se han cortado del vector. Para transformación mediada por *Agrobacterium* de plantas, el vector también comprende fronteras de T-ADN de *Agrobacterium* que flanquean las unidades de transcripción.

Los vectores para transformación mediada por *Agrobacterium* se preparan con cada uno de los genes que mejoran rasgos que tienen una secuencia de SEC ID N°: 1 a SEC ID N°: 151 y SEC ID N°: 153 a SEC ID N°: 239 con el ADN únicamente en orientación sentido para la expresión de la proteína que mejora rasgos relacionada y en una orientación de supresión de genes para supresión de la proteína relacionada. Cada vector se transforma en callo de maíz que se propaga en una planta que se cultiva para producir semilla transgénica. Las plantas de la progenie son autopolinizadas para producir semilla que se selecciona para semilla homocigótica. La semilla homocigótica se usa para producir plantas endogámicas, para la introgresión del rasgo en líneas de élite y para cruzar para producir semilla híbrida. Las plantas transgénicas de progenie que comprenden el ADN que mejora rasgos con una secuencia de SEC ID N°: 1 a SEC ID N°: 151 y SEC ID N°: 153 a SEC ID N°: 239 tienen uno o más rasgos mejorados que incluyen, pero no se limitan a, aumento del rendimiento y los desvelados en la Tabla 3. El maíz transgénico que incluye endogámico e híbridos también se producen con ADN a partir de cada uno de los homólogos identificados y proporcionan semillas para plantas con el rasgo mejorado del ADN relacionado de SEC ID N°: 1 a SEC ID N°: 151 y SEC ID N°: 153 a SEC ID N°: 239. También se producen plantas de maíz transgénico cuando el ADN que mejora rasgos es transcrito por cada uno de los promotores del grupo seleccionado de un promotor de globulina 1 de maíz, un promotor de oleosina de maíz, un promotor de glutelina 1, un promotor de aldolasa, un promotor Z27 de zeína, un promotor de piruvato ortofosfato dicinasa (PPDK), un promotor alfa 7S de soja, un promotor del antioxidante peroxirredoxina (Per1) y un promotor 35S de CaMV.

La semilla producida por las plantas se proporciona a los agricultores para permitir la producción de cultivos de maíz con rasgos mejorados asociados al ADN que mejora rasgos.

Tabla 16: Elementos de un vector de transformación de maíz a modo de ejemplo

FUNCIÓN	ELEMENTO	REFERENCIA
región de transcripción de la inserción de ADN	Promotor de actina 1 de arroz	Patente de EE.UU. 5.641.876
	Potenciador 1 del intrón 1 del exón 1 de actina de arroz	Patente de EE.UU. 5.641.876
región de transcripción de la inserción de ADN (región de inserción flanqueada por <i>att</i>)	<i>AttR1</i>	Manual de instrucciones de GATEWAY™ Cloning Technology
	gen CmR	Manual de instrucciones de GATEWAY™ Cloning Technology
	genes <i>ccdA</i> , <i>ccdB</i>	Manual de instrucciones de GATEWAY™ Cloning Technology
	<i>attR2</i>	Manual de instrucciones de GATEWAY™ Cloning Technology
región de transcripción de la inserción de ADN	Región 3' de <i>pinII</i> de patata	An y col. (1989) Plant Cell 1:115-122
región de transcripción del marcador de selección	Promotor 35S de CaMV	Patente de EE.UU. 5.858.742
	Marcador de selección <i>nptII</i>	Patente de EE.UU. 5.858.742
	Región 3' de <i>nos</i>	Patente de EE.UU. 5.858.742
	Región 3' de <i>PinII</i>	An y col. (1989) Plant Cell 1:115-122
región de mantenimiento de <i>E. coli</i>	Origen de replicación <i>ColE1</i>	
	Origen de replicación F1	
	Resistencia a ampicilina <i>Bla</i>	

Ejemplo 5 Construcción de transformación de soja

Las construcciones para su uso en la transformación de soja pueden prepararse por clonación basada en enzima de restricción en un vector de expresión común. Elementos de un vector de expresión común a modo de ejemplo se muestran en la Tabla 17 más adelante e incluyen un casete de expresión del marcador de selección y un gen del casete de expresión de interés. El casete de expresión del marcador de selección comprende el promotor del gen act 7 de *Arabidopsis* (*AtAct7*) con intrón y 5'UTR, el péptido de tránsito de *Arabidopsis* EPSPS, la región codificante CP4 sintética con uso de codón preferido dicotiledóneo y una 3' UTR del gen nopalina sintasa. El gen del casete de expresión de interés comprende un promotor 35S del virus del mosaico de la coliflor operativamente ligado a un gen que mejora rasgos en una orientación sentido para la expresión de una proteína que mejora rasgos y en una orientación de supresión de genes (es decir, orientación tanto antisentido como en una orientación sentido y antisentido) para una supresión que mejora rasgos de una proteína.

Pueden construirse vectores similares a los descritos anteriormente para su uso en sistemas de transformación de soja mediados por *Agrobacterium*, teniendo cada ADN que mejora rasgos una secuencia de SEC ID N°: 1 a SEC ID N°: 151 y SEC ID N°: 153 a SEC ID N°: 239 con el ADN únicamente en orientación sentido para la expresión de la proteína relacionada y en una orientación de supresión de genes para la supresión de la proteína relacionada. Las plantas de soja transgénica que se producen que comprenden el ADN que mejora rasgos con una secuencia de SEC ID N°: 1 a SEC ID N°: 151 y SEC ID N°: 153 a SEC ID N°: 239 tienen uno o más rasgos mejorados que incluyen, pero no se limitan a, los desvelados en la Tabla 3 y el aumento del rendimiento. Las plantas de soja transgénica también se producen con ADN de cada uno de los homólogos identificados y proporcionan semillas para plantas con rasgo mejorado del ADN relacionado de SEC ID N°: 1 a SEC ID N°: 151 y SEC ID N°: 153 a SEC ID N°: 239. También se producen plantas de soja transgénica en la que el ADN que mejora rasgos es transcrito por un promotor deseable que incluye, pero no se limita a, el promotor 35S potenciado, promotor de napina y promotor SSU de *Arabidopsis*.

La semilla producida por las plantas se proporciona a los agricultores para permitir la producción de cultivos de soja con rasgos mejorados asociados al ADN que mejora rasgos.

TABLA 17: Elementos de una construcción de transformación de soja a modo de ejemplo

Función	Elemento	Referencia
Transformación por Agro	Frontera derecha de B-ARGtu.	Depicker, A. y col. (1982) Mol Appl Genet 1:561-573
Resistencia a antibióticos	CR-Ec.aadA-SPC/STR	
Represor de cebadores del plásmido ColE1	CR-Ec.rop	
Origen de replicación	OR-Ec.oriV-RK2	
Transformación por Agro	Frontera izquierda de B-ARGtu.	Barker, R.F. y col. (1983) Plant Mol Biol 2:335-350
Casete de expresión del marcador de selección de planta	Promotor del gen act 7 de <i>Arabidopsis</i> (AtAct7) con intrón y 5'UTR	McDowell y col. (1996) Plant Physiol. 111:699-711.
	5'UTR del gen act 7 de <i>Arabidopsis</i>	
	Intrón en 5'UTR de AtAct7	
	Región de péptido de tránsito de <i>Arabidopsis</i> EPSPS	Klee, H.J. y col. (1987) MGG 210:437-442
	Región codificante CP4 sintética con uso de codón preferido dicotiledóneo	
	Una 3'UTR del gen nopalina sintasa del plásmido Ti de <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Patente de EE.UU. 5.858.742
Gen de la planta del casete de expresión de interés	Promotor para ARN 35S de CaMV que contiene una duplicación de la región -90 a -350	Patente de EE.UU. 5.322.938
	Gen del sitio de inserción de interés	
	Extremo 3' de E6 de algodón	Acceso de GenBank U30508

Tabla 3

SEC ID N°: SEC ID N° de homólogos

240:	7319	7772	4165	7279	8472	1915	8526	6419	7759	9073	2613	2268
241:	872	9283	6127	9719	4864	6242	6778	2818	4446	8022	5640	2336
	4632	9988	706	4211	5868	5162	4105	7686	12195	10669	12342	8692
	937	9010	7423	10353	8552	4128	7460	9427	2284	3244	11978	9829
	5537	11579	2835	8650	5475	11890	12319	6834	10066	6183	4312	7543
	4748	8553	1446	2403	7293	3548	3540	3961	7214	10438	1640	9780
	5134	8322	2800	11545	6091	11097	1349	6290	7629	4403	10890	6442
	4934	7927	2400	7549	12416	10157	6551	10160	5289	1354	4654	7838
	2515	5801	12216	8987	5141	9726	9371	3860	10153	8874	1345	7931
	11102	3968	2890	6186	628	8703	10499	8307	12271	1848	4425	1204
	11204	11770	3018	3441	10577	10610	3234	12003	8649	7112	12207	10622
	1537	11923	3133	4808	9940	6766	5693	8842	7406	4197	4325	11073
	5119	3464	9955	6521	4120	9924	5665	9783	1361	6628	8108	6348
	9174	6893	10059	1792	9442	8812	3365	6619	12076	2084	4511	3278
	10795	6924	1868	12137	4042	2276	2767	8580	11788	10100	7117	5046
	10300	4514	7688	1267	870	4951	6411	646	5189	7310	10504	11929
	6531	5445	9848	2178	713	10999	7548	3144	4347	6416	9264	9668
	1690	5343	6267	1010	5444	10776	9473	4244	3142	6550	4093	2863
	1540	7457	1122	10665	8509	11546	884	11773	4089	11785	2325	5602
	10916	9567	862	7304	1912	11709	6309	4091	10924	5306	970	8723
	8736	11430	3004	5891	11938	8737	8543	6285	2682	5065	2993	8344
	3683	9687	7150	3905	10712	8324	774	10904	8487	5985	7098	9655
	1928	12197	6661	3414	3878	8576	8030	8147	9951	9758	683	5810
	5534	7770	12211	7227	6188	11837	8039	9649	1316	2610	8172	9902
	9658	7427	854	9096	9694	10883	8039	9649	1316	2610	8172	9902
	11673	9763	499	2532	2273	1867	10674	11658	10467	11143	1561	1227
	9980	2746	6047	9225	2913	6734	10827	3272	6723	9908	7466	1095
	3459	6609	11165	9800	10526	4253	9446	9328	5243	6005	1744	3090
	12421	3920	9832	3711	9011	8423	4461	6692	6831	8360	1571	3181
	10685	9072	11904	1514	2794	8680	1183	2396	9496	723	3283	5147
	998	10149	12448	9404	2278	9070	5576	1261	5939	3430	2638	11889
	9203	5258	12274	5799	9522	2209	11401	4316	10154	7581	4238	1104
	2565	2848	3349	4385	7993	4012	10842	544	2395	6432	11530	3630

(continuación)												
SEC ID N°. SEC ID N° de homólogos												
	6887	1938	8532	4631	7779	9935	6726	5294	3500	2088	5588	8751
	10934	9077	12313	8073	6328	3806	12016	9891	2751	5347	3832	10482
	524	4855	1451	4889	9957	9833	3328	3098	11887	579	2376	3260
	1257	10421	5585	7953	6402	1187	8710	933	10081	11571	10018	11279
	929	11738	10702	8395	1157	3651	6278	10269	5139	1814	9838	12108
	7445	2303	9917	11909	2568	7488	10105	12154	11220	2690	3294	8852
	2106	8583	3726	9139	4395	7992	7908	9159	5429	8677	5538	1997
	10866	5592	7970	3940	8551	6443	4844	10921	7499	3865	12214	9624
	9142	10614	3371	11020	5516	3879	2073	1240	10773	867	6888	483
	7134	7633	4447	3518	9610	10005	4180	2410	2959	6221	10371	4837
	6806	10032	9340	610	6464	3840	6788	8340	5255	11301	3620	11459
	1054	9431	3644	6930	815	12034	4401	1154	10315	3519	4509	7105
	5666	8850	3340	2021	10868	3167	2533	4785	3507	1879	1719	7972
	9585	784	11284	10399								
242:	6383	3426	9749	9579	6504	8571	11363	9729	2774	2824	6800	11836
	10978	7535										
243:	5229	2681	3233	1102	12450	7058	6882	3684	4692	2430	6687	2702
	11159	493	3493	6575	9272	8970	4693	4714	7364	4741	11303	7436
	6620	9708	652	2422	6738	8982	8262	3429	5618	10576	9432	10821
	546	12282	7540	3060	4399	5507	4375	597	4290	6727	1992	2652
244:	10629	2001	4620	7522	3946	5212	8061	3108	11936	9667	9717	
245:	11270	10304	1123	8010	8141	2919	10052	3566	6143			
246:	7026	4240	12380	10454	2125	974	3282	11533	12119	7082	8997	10377
247:	9507	5676	8328	9317	3732	4437	1163	9237	8320	2838	8151	1714
	11146	6077	9057	11217	2449	10690	9448	10293	5728	5782	2401	4138
	7730	4667	11152	2750	5910	1459	8501	967	3942			
249:	5305	5158	1726	8705	7617	4366	12092	7504	11434	7904		
250:	909	10291	9115	8458	1394	8188	6229	2718	3041	1813	8123	2293
	4615	5989										
251:	5788	3707	4166	1309	11626	1215	9592	10564	11762	2922	1120	12246
	10130	6124	7520	7244	10681	11835	10359	11822	1766	2023	3987	4219
	4929	3514	7009	6835	10366							

(continuación)

SEC ID N°: SEC ID N° de homólogos

252:	2506	10724	1168	12248	3861	6955	5455	8083	2472	2882	11296	7518
	4531	2790	5220	4642	5764	10555	8516	7162	10500	9751	11410	3195
	949	2139	9846	4335	8027	1533	9734	7365	5135	8792	10929	10357
	8500	4674	5959	6248	9723	9847	2620	3874	6654	2979	2131	8267
	8917	1975	1952	5318	5235	10456	6570	9295	5997	8133	9082	3101
	11307	5913	10426	10488	9032	1935	11387	5730	9598	886	9453	3484
	2108	9605										
253:	9563	6621	3102	7854	11948	9707	2789	1234	7544	3885	709	3508
	2080	8875	6633	5726	583	9480	6387					
254:	2558	10259	7830	12190	11787	11233	11804	11932	5432	11382	10976	10354
	8558	8784	1077									
255:	663											
256:	3155	8327	12074	9950	11278	1918	6688	12219	11002	11810	8671	11340
	3023	2359	11271	7811	5557	10846	11839	5352	9877	1249		
257:	5521	2418	9398	6286	3794	2948	10602	1167	9572	8598	4842	10051
	8479	1101	2475	4960	4151	11114	7441	9907	5012	10145	5948	5536
	7793	2678	1630	5607	3893	11211	4471	2407	5192	10494	9235	5625
	2844	7863	1916	11840	9416	12031	7637	5138	1397	10345	11318	10309
	533	5104	9566									
258:	10132	11629	1984									
259:	2502	2744	1758	1245	7521	1770	3621	3677	7322	6549	3343	3277
	665	1392	5927	4207	3763	11133	10919	8597	7914	1260	825	4249
	7390	8418	9344	1332	11207	9792	10283	8237	9052	10573	4819	5161
	2192	9433	9103	11532	1235	9170	7685	12286	7576	504	9858	5613
	773	12105	6580	8482	882	7672	11475	4067				
260:	5500	10296	1405	4006	3542	3588	9697	3853	9860	4078	11994	5042
	8840	5076	11683	7326	10026	11098	7930	10838	7510	4570	2206	6315
	10542	6334	790	3761	8956	812	5842	7642	9437	1657	4261	10932
	6736	7695	1678	11518	4057	11273	6908	8749				
261:	7236	10747	6886	8505	4433	2828						
262:	5541	12099	1314	7357	4849	6797	10245	8407	7689	11614	11634	10992
	8211	9445	11122	3505	3148	7133	5137	5978	7204	6146	1059	3030
	11553	4770	4028	2756	3934	2656	9282	5506	5701	12125	7721	5870

(continuación)

SEC ID N°: SEC ID N° de homólogos

10689	11077	6742	9122	3045	11005	1242	4623	1135	12324	9419	4799
3549	860	4326	6616	12346	4982	1794	5146	4991	1988	4589	5126
3279	9035	12249	8864	1774	10361	7949	3640	1388	9286	11235	1803
6587	9401	2722	10861	1954	6421	4603	3258	6379	3220	2945	10757
6351	7391	12326	8560	1725	11541	7338	11740	2415	5573	2977	4393
1588	5712	6159	10673	7398	1137	10128					
263:	5581	3054	11826	7738	7209	11043	9303	8847	11344	4650	8603
6538	7278	11262	9330	1403	3746	1381	7631	8428	2483	4715	11572
10166	7872	4218	1555	9388	4651	5293	11379	7883	5692	6376	9091
11863	5991	7677	3240	9457	2300	10016	6676	7461	7839	866	4971
11657	5928	7762	6798	3314	7619	5988	2960	8922	1702	6842	2170
264:	6344	6298	1512	5719	2491	5202	10321	3352	10631	5917	6083
9894	5968	3590	12458	7922	8486						
265:	5263	8210	4468	4206	4894	5244	2592	10185	5266	7690	5903
9738	7426	5696	649	2130	9378	2976	8828	5950	11690	877	9138
4017	6360	1056	10568	824	1530	9517	8233	3151	753	7163	5754
2049	530	8273	7202	11941	5905	6366	6487	2697	7635	6279	12035
10146	6342	752	8246	9931	692	10126	8766	5561	11222	3361	10946
5242	8076	2405	2617	1865	2657	8607	5921	6471	5322	5204	8380
9132	7500	10092	3267	8286	9969	6973	11893	12262	10563	3738	822
6392	622	10857	9505	11086	10533	2312	3827	8685	2271	6241	5008
3275	11760	7717	8735	5121	4477	10541	2457	12093	672	10642	3263
4132	3908	2158	1110	9674	4706	5371	4655	1385	7054	10162	4026
9426	798	8527	7663	9407	1548	12317	1065	6247	3991	6995	10511
3310	7942	7749	971	8054	3702	7725	4149	1430	4869	8240	863
5849	2614	676	6373	9434	6569	8422	7905	2065	8226	1508	9293
10963	7217	1061	11930	5694	4859	2066	4479	3376	3741	8660	4973
5325	12445	7501	11478	9009							
266:	5282	9034	7946	3565	11010	8542	2900	11813	2791	11619	8609
8565	3327	12063	10274	10374	900	7557					
267:	11439	1214	4657	9436	9226	4077	682	8386	4448	11550	8196
11891	5540	8891	2221	2140	6220	8049	9688	10817			
268:	10697	8194	3123	966	3221	3093					

(continuación)

SEC ID N°: SEC ID N° de homólogos												
269:	10295	1410	8017	3948	5643	4846	6118	9778	6770	9890	12451	1151
	3574	4835										
270:	7653	9879	12273	7937	9112	4263	8319	5428	2874	11856	9069	3095
	8815	2046	641	8043	4590	11907	9367	1159	3424	9260	11646	11305
	11376	7165	4574	4181	2391	12397	5370	5450	8238	11297		
271:	9887	1594	4561	739	2428	7289	3300	8694	1074	4512	12138	1956
	10699	1707	7373	11092	8691	1166	9373	700	1732	4645	10654	1460
	1285	1281	8288	11083	1510	2274	11977	10396	750	9084	10927	9906
	5155	1382	8164	2022	3091	2406	5839	11635	5635	7282	5281	6545
	9626	11931	2083	7990	5071	3039	9941	2486	6359	11986	8040	5737
	7068	2386	969	8753	10709	1706	3782	5246	2968	11013	11425	6000
272:	12210	3011										
273:	4502	1337	6810	4527	5021	4545	10234	4774	8930	11081	12176	4641
	4805	10993	5304	3150	4398	2850	11682	10640	7643	2956	7696	10206
	2017	10653	12339	11567	9175	5639	9149	4145	10829	7654	7745	6090
	4474	12310	11298	4324	7989							
274:	10151	1343	9690	5795	915	6283	12244	6167	12415	11244	7538	669
	10236	7748	5338	8272	3603	10715	8221	6126	8746	1147	3862	1386
	4626	9462	3382	11669	9745	1953	5485	11800	12029	7011	4464	3433
	6878	916	10508	9362	6949	7323	9591	3126	4283	10994	4969	5567
	2076	829	11238	1408	1733	8827	7859	8376	2390	6010	9864	10550
	11449	4453	11559	574	12253	12301	2742	3302	7911	10899	1584	10625
	907	6246	11192	840	11341	609	3764	10344	11888	4851	2989	7281
	5505	764	10714	10412	3223	2713	1255	11776	10389	3325	10604	4254
	6746	5745	2438	4102	3660	11358	6251	10395	7396	7923	5336	4661
	5515	10273	11125	8513	6191	5873	5865	5467	3138	6058	9002	6100
	3066	7028	7343	7983	11854	8332	7665	6357	8659	3544	6694	10434
	1608	9976	6353	10465	5897	3342	12015	10483	2353	3379	8843	11336
	899	4186	2077	11282	2511	696	3951					
275:	3988	802	11542	11369	9017	11035	9816	5563	4495	3642	6836	1845
	8908	5111	3844	9772	8011	11500	12331	3612	3997	1045	8865	7631
	11726	9696	6732	10000	4895	3344	697	6470	807	8854	9589	10566
	9152	8713	1944	7340	702	3836	8254	10886	564	1886	3831	6333

(continuación)

SEC ID N°	SEC ID N° de homólogos	8135	1724	950	5818	10193	8811	8628	905	3898
276:	6117	1496	11477							
	8299	8358	12402	6642	1355					
	2169	11476	7821	1266	9387	6032	9172	6564	5439	10117
	12044	3527	12088	6104	11857	1112	5026	1804	1488	4647
278:	5852	8919	3271	10169	5685	4328	8860			
	4220	5703	10281	1519	633	8471	11602	3177	10311	3720
	6857	7703	4881	2350	7783	8244	9074	2110	8593	11793
	9543	3699	7208	5605	2949	10824	5027	5513	1127	2378
279:	6061	8900	5611	8962	2636	9653	6323	8203		
	7977	4811	2446	11781	6820	3168	5194	2308	2692	7979
	3206	3191	10546	7127	10251	8926	2683	4190	11458	624
	2770	7857	12407	12461	9756	2575	8112	5600	5560	3284
280:	2287	7413	3795	6771	3577	6512	918	11231	2508	9630
	4279	11287	9474	11322						
	2028	1786	5526	11647	11029	7795	3076	6567	12424	5784
	8619	7640	719	4058	5009	9469	3104	3560	1991	4995
281:	7473	3131	3446	11154	1914	3301	3697	6627	2421	2985
	8765	11696	2067	808	4659	12259	6116	4053	3061	1241
	2503	9710	8539	12436	5596	1069	7135	2640	3543	9315
	7926	1963	11876	4235	2876	8700	1574	12368	12254	823
282:	4476	3534	6997	4457	7074	566	5110	3289	4223	1173
	11332	2668	9331	5631	1114	2596	9870	5609	11966	8627
	4572	11263	1106							
	6885	12394	3460	1949	11830	8616	10537	8905	8718	7566
283:	11255	7655	4357	10578	5918	7620	3719	6735	8835	7577
	2545	10266	4353	10833	4397	5077	8739	8635	9581	9878
	6257	9391	10046	6202	3529	7739	3053	10569	6689	9494
	3892	9795	5280	5720	6472	6961	12395	1772	9164	9819
284:	9351	12175	4380	5525	4322	6666	602	9760	6826	9359
	6952	8535	1524	8477	6697	3154	12001	1083	3502	4513
	3252	9470	1909	7341	8427	7945	5368	8447	2143	1516
	9817	8044	7032	4038	4756	4966	5522	6631	11853	4975
7003	6724	9360	9209	12228	1609	1421	7481	6644	8777	12140

(continuación)

SEC ID N°: SEC ID N° de homólogos

10687

283:	1264	11225	3729	5940	7731	12370	659	7066	9515	4931	2567	6129
	3931	2518	6686	705	5223	5813	2082	10751	3378	10518	8119	7714
	7598	8128	5904	8647	9354	8977	6953	12230	9075	10913	621	2918
	6596	6500	5250	5906	3182	10854	3105	11319	10872	7611	11668	645
	3083	7126	3944	10161	10805	5835	2014	5486	2092	8804	4986	1747
	8661	3669	11765	3911	5170	5131	11064	4830	3169	4771	8468	2199
	9730	12042	6401	3880	10156	4342	4126	12422	2433	2908	7692	4703
	3001	5603	8034	9394	7102	11362	2880	7164	3841	2730	2902	7741
	2688	9762	10756	1500	12018	7554	6614	4299	10031	7987	4336	3353
	1452	7666	3538	7184	1032	496	4521	6170	1031	12261	7659	3522
284:	3406	6207	3941	3107	6114	1364	7036	6553	5645	11299	1591	2260
	2527	7807	10915	11381	3339	4106	3403	3513				
	6275	8031	11396	11068	6144	6901	1677	9747	5479	10638	10458	12008
	7191	4441	10503	9320	5378	6741	8310	11937	5463	5820	6201	4251
	10652	5984	3650	4243	8318	2772	690	4162	2152	951	3034	11886
	4131	4517	4483	1053	4076	12352	2833	2445	10815	10247	9468	1097
	9265											
	940	9000	9831	9731	7276	8668	6396	7301	2470	10278	2467	4421
	7774	3286	2063	1808	2189	7260	11548	8989	1250	5911	4075	5203
	2358	5558	5226	7431	1785	6448	3767					
286:	2145	8599	10948	6225	11072	2197	2757	6638	5311	7645	1982	4821
	1376	2555	2747	10907	3161	4905	1891	7299	6938	8788	893	11843
	8470	11662	5421	2349	11864	7049	10028	1222	2608	12111	2214	1335
	10383	8738	1841	6534	1246	6377	2646	4358	5942	7951	8088	4662
	11432	6967	5837	3017	8907	9593	9659	482	3666	2501	3744	3064
	9837	10637	6827	1996	9849	1985	2873	1882	5028	9685	11008	8686
	6446	7029	7027	5458	7033	6213	6295	1076	12256	8859	12163	931
	4920	11878	3715	9643	7875	8225	12038	8403	11408	6962	8291	12013
	9666	7532	10425	3996	4964	10826	484	1417	6821	8311	10644	5302
	7711	1979	8295	3649	12328	4085	5838	1563	2427	1369	10062	2039
287:	3137	7986	6801	1872	9285	11018	1415	3585	6710	1520	7573	5535
	12389	11651	8631	11896	1279	4516	4043	10442	4972	3363	1219	8277

(continuación)

SEC ID N°: SEC ID N° de homólogos

6808	10460	10481	4724	4086	4843	8260	6972	8897	9573	6840	1319
4866	6354	8954	4541	9078	2367	7262	8419	4023	5593	2103	5880
9207	10480	4878	8507	4682	1189	7154	2118	3589	2629	11281	9269
9208	1812	12377	2700	6802	5328	9597	4302	10352	11089	3569	9420
11397	896	7628	6205	9287	11031	5218	11549	6524	10574	1881	5339
5045	4071	10233	10909	12281	7025	7971	11737	11915		8033 9418	8461
8346	3737	2205	2107	606	11914	3822	11576	7789	5578	5056	1764
6011	8217	12298	10433	3351	8600	1967	9809	5511	4280	10360	2531
1660	5200	1817	1484	7733	12423	10823	5112	1901	8200	8462	5319
7648	4216	12052	6554	10867	5774	3524	10230	1877	9711	9335	6059
11667	8707	11717	3197	7064	11940	10287	10939	1480	844	4796	2135
749	7963	4915	1352	6211	5892	11275	3046	4718	9194	4402	7782
6584	7550	7199	6271	10918	9995	4084	10596	8450	2859	6992	10175
8530	10138	850	9383	5116	7826	4456	2062	5628	746	6980	3618
9693	8455	4187	5821	8832	9025	9657	1017	11242	9336	9925	3739
11971	5185										
288:	5348	6988	9850	12393	5642	4272	7664	5768	2239	10722	11731
6181	8354	8858	4580	2292	11675	11955	3003	2309	6978	7437	6963
3348	1384	3367	4295	11024	6522	10818	2095	8059	5391	4575	2845
751	5938	2005	7757	8416	1079	9930	6064	8019	7973	5001	8966
8103	3696	8845	10877	11016	3966	11997	7483	4704	1755	5574	2153
10075	4543	613	4822	4321	1170	7459	10843	7479	4345	1028	821
7615	10064	4827	4045	9607	3901	9278	4885	8800	3708	12309	8573
4029	8098	976	11913	9490	6374	9234	892	11638	11650	842	5597
11803	9447	532	10820	6853	11295	10415	10973	6258	625	6489	4373
8623	1861	11497	10774	1341	5241	7291	11074	9223	1636	10485	8099
10704	1689	3110	1625	3479	2459	7846	4670	4908	11404	7790	11959
2302	4099	7169	2704	3935	5659	11109	1971	4882	1420	2724	7516
2619	11145	726	11950	10404	11066	8602	4952	4595	8430	7957	6667
4098	5760	3721									
289:	1683	12362	9113	4392	2414	2717	7366	11744	2316	12432	10453
11679	8722	6948	2664	778	5462	5825	6919	945	2473	6807	8373
2166	1633	7234	7776	12372							

(continuación)

SEC ID N°. SEC ID N° de homólogos

290:	4700	7981	9048	2079	2356	10812	9843	3864	2142	9836	1057	3447
	1172	7866	7140	8426	5441	8679	8292	7107	1826	4121	10814	1141
291:	7236	8505	4433									
293:	6920	2766	12174	5078	10056	1978	3146	3915	7250	6194	7842	3385
	12026	10851	9549	5924	9689	7070	3010	1015	3080			
294:	11118	1686	1569	7161	9314	6479	5327	8152	7604	2735	6160	11023
	6082	7438	11324	658	6632							
295:	1797	12327	9056	1769	8521	6141	4451	10662	3121	6729	4002	
296:	11665	4628	8100	11272	2962	6690	8757	3907	736	10968	8396	4139
	2701	2537	11009	3140	569	636	10430	11348	11239	4423	8170	
297:	10040	6879	1716	4274	5840	11946	10045	1299	4204	6868	1203	1570
	12187	4055	11034	11867	10121	8764	9896	4383	10441	11603	5197	7751
	2307	4538	8156	9640	9117	9173	2889	2739	1302	11224	6739	12406
	5005	2175	11240	6051	8920	4088	2602	3670	4411	2277	8695	9684
	2157	9102	12411	667	11355	12131	3377	4744	1665	1819	9771	6610
	3356	8252	7484	12046	2109	6629	7975	3550	12082	11922	2488	7468
	6702	3819	12435	3037	7503	8208	2368	1656	10950	7799	3709	11821
	6754	9570	3461	2514	10798	6302	9565	12201	1206	7542	7345	9166
	1827											
298:	8139	8641	6523	7360	10848	7090	11351	10710	6316	8361	9946	1907
	6719	10272	12085	7644	8212	1763						
299:	6133											
301:	2843	8911	6094	12023	11991	12055	2010					
302:	10750	3288	4820	10759	7232	1468	2951	4205	1048			
303:	7006	9229	1705	10858	4364	890	1760	7465	4675	12426	5360	2156
	9318	8825	11203	6042	7668	11101	1703	6193	7506	6825	5555	4308
304:	1683	4392	7600	2710	7988	10089	2414	2717	7366	2316	960	1455
	10749	9333	4153	10429	6807	8373						
305:	6095	6918	10432	6852	5239	3438	10943	9551	695	9080	5993	
306:	4430	2094	4292	12439								
307:	1536	9023	11880	10936	7226	9524	9199	6926	6112	11618	7321	8750
	11623	4860	6588	5722	8796	4694	11392	7090	10582			
308:	5238	3842	10493	3617	12025	10781	7017	10148	4213	1647	734	1922

(continuación)

SEC ID N°: SEC ID N° de homólogos

1286	6020	11398	4553	4130	1328	10923	2987	997	9857	1651	8745
1276	11827	5769	11903	1711	10772	2601	8974	5893	9389	3765	6869
1320	8841	560	4916	9060	7308	3672	10804	7998	5884	7476	6162
309:	8801	3541	6711	7964	681	876	1839	9861	3546	9830	9865
1265	6813	11471	9210	1347	9892	9273	7114	12376	2419	3964	
310:	4125	2643	777	875	8914	5741	7486	7454	10520	1438	12303
9051	5051	7954	6123	3280	1495	3158	3837	12409	4690	2998	8519
7534	797	9155	2452	10780	10529	1310	9092	6012	8983	10985	4080
2765	2516	2971	5804	7794	9472	4925	1082	1535	8326	10677	4469
10965	4601	5747	1947	11884	8621	2712	485	497	5002	7211	5018
4902	11085	5772	3149	11134	3570	7109	545	2244	5163	4170	10310
2612	1373	10624	1896	11243	584	5259	3993	4281	1326	8302	4033
3299	1465	9045	1664								
311:	5122	8544	1850	3082	2101	8807	1743	4416	4485	4518	3943
4757	7512	786	9889	3591	2580	2002	3092	5789	9825	994	3209
8435	4537	11593	7021	8789	10106	1573	6780	7096	6073	7736	7171
4282	4394	1849	930	972	2847	1117	8721	7189	2100	5149	7221
11953	11963	4974	1429	2210	11598	1531	7039	11711	9936	5224	10186
4072	2649	8963	2382	10351	2096	10974	10636	11000	8734	3916	6796
8657	11687	4697	4329	6832	2727	8374	9438	10668	3647	11552	7524
6604	1885	11828	7595	10209	11411	7797	11885	10661	12019	10202	4612
10108	10561	1613	1092	10530	7110	9015	3939	4852	1642	724	2015
12189	9706	3937	2177	8937	11655	4387	10778	528	3692	1932	9177
8140	6092	5247	1545	9038	5309	11555	5090	7242	785	8998	10155
3954	1639	6650	8405	3305	10431	10539	8886	4361	1783	9454	2362
4246	1134	11285	2831	7650	4979	12225	6502	1557	4758	6477	2980
5277	9165	7722	7118	7822	3783	11529	1049	6277	11780	5477	11519
11902	8645	10034	2590	9003							
312:	7634	1055	5087	10523	6530	4135	2639	12447	10719	3604	10044
11004	5269	5981	9041	6527	7087	1003	12355	3599	1749	1820	5237
7019	10664	4458	6210	6762	5579	1513	6086	10859	10159	3881	10294
2398	12212	766	6385	11329	1607	1256	2732	11289	12151	9669	12374
2974	11070	10739	3928	2935	3478	3994	8822	7264	6240	12089	1476

(continuación)

SEC ID N°: SEC ID N° de homólogos

5528	4883	10745	11984	2621	8740	3950	745	1798	3044	7394	5136
9692	9466	10063	2967	12391	6677	2946	10268	10123	2008	8755	2625
2298	7571	9242	3014	11869	11288	6433	5751	9405	1874	1578	9665
9703	10320	1824	11681	948	6637	4997	5823	9683	604	3847	8941
3539	7889	12124	6925	8278	4831	1027	6795	9728	4914	11590	4955
3033	8945	3413	2133	3141	9776	8259	5604	661	6708	2072	12017
7921	9961	3450	11775	11689	6597	1305	4984	6024	4604	7267	2781
3324	8629	6970	4731	5856	9555	9063	10972	10612	7412	3246	9125
4523	6617	2807	8556	2723	8799	6217	9664	1990	11713	2075	10468
4467	6119	11216	7469	2925	2494	3341	4896	2416	4030	10414	9642
4643	7255	9639	5236	1493	9646	4850	11457	1654	2507	12091	10492
7103	2934	5863	8408	5290	4617	9606	8925	9280	7235	9904	5480
2332	1344	6048	1870	4562	3225	6261	9429	11873	9097	8533	3625
1562	3814	9222	6849	9779	9289	10403	7784	10394	10711	5376	9998
9111	11670	2440	4937	8095	11790	3533	3573	10164	3631	5413	7728
4797	5032	3704	4146	12291	3808	8279	3188	9621	5861	3160	1278
9042	7012	1339	8067	4027	12239	1111	6505	1964	2755	7935	1146
5619	11265	9550	7470	5941	2048	671	2054	11792	10983	4007	11511
3313	2905	8370	577	6682	8829	2637	7402	10339	2388	11321	8431
7853	5000	708	8697	11858	8007	3242	10998	7675	6001	6775	10819
10672	4362	4303	6889	9634	12308	3291	10452	10522	11809	637	6341
12285	12296	3800	10019	11112	9244	9312	10119	9168	6896	6098	10192
7342	5015	2487	3021	11213	7043	986	9461	9910	2648	4195	4300
11055	2513	1815	1005	2305	11368	3526	1900	8978	9874	1294	6139
11757	9476	6915	6678	8672	11808	9501	10375	632	3130	11380	1466
5108	396	12020	6945	2981	6611	10243	7593	4578	5469	8960	3071
3977	9183	4638	4536	5335	7404	8494	10474	5464	8474	6990	8014
5831	6203	12383	2696	11829	9304	2557	4221	4376	9927	10496	1226
3798	585	9118	660	619	8366	12387	10069	12183	4463	4586	11071
2345	5424	6894	10158	11247	9301	8176	6140	4214	871	11164	3381
1638	4957	5190	6700	3735	1445	4493	4490	3902	5321	6187	8125
8124	10068	10324	4539	4117	3925	3859	11975	4532	10405	11859	7496
8381	9275	6259	803	6176	11343	11136	11610	9332	4494	8895	5353

(continuación)														
SEC ID N°: SEC ID N° de homólogos														
313:	5936	11292	8637	7285	3825	10337	8522	2680	8726	7136	11138	3680		
	5761	11442	6639	5433										
314:	3073	2474	3510	7075	4976	9185	6594	869	9518	10060	2564	8838		
	10029	7651	7037	7585	7372	977	1353	5662	11431	7052	1583	10463		
315:	12267	6507	3712	8663										
	9863	731	7111	1547	6030	1144	2530	2947	7906	6412	10680	711		
	2149	7709	1058	10768	11394	10997	1284	965	4092	9557	8392	9018		
	11227	11661	7614	8846	8961	6265	490	12083	5584	6306	3578	978		
	2842	8258	10448	3028	3973	2330	6069	9296	5493	11444	8227	1889		
	1976	12418	11926	5310	9629	2823	7121	8824	7288	2825	5007	4727		
	12316	11612	6029	10124	5395	1188	5651	9230	2587	9403	9616	4660		
	8057	8263	12442	4124	2229	9270	4779	3224	2595	1363	1671	8594		
	6155	1946	6712	8032	4807	5172	985	1160	11249	9027	7492	503		
	1411	3627	6314	2251	4025	9899	2898	4371	5499	4640	1407	1416		
	2827	8336	3321	6390	11330	5678	2357	7419	4422	1604	1334	9460		
	9380	3823	1149	1878	3273	11574	2693	9855	6216	9497	1866	7358		
	9376	3870	5679	11309	1521	5487	6999	9402	3639	5342	9511	11774		
	10476	6643	10262	9095	7084	4824	6791	6636	4738	3470	11228	3628		
	7590	8050	5438	3050	2836	8078	9535	11620	9299	851	10008	11688		
	10302	9253	10109	10392	7447	10775	9647	6398	11767	2404	9532	7553		
	2223	4320	12144	9221	11973	1195	6037	612	8163	6142	1835	11727		
	10024	11866	1740	11823	1296	6755	6363	10020	1599	9297	7901	2689		
	1450	12117	6630	3852	9369	5010	3440	541	2026	8352	11759	7435		
	11048	6494	1923	2091	9363	3829	9321	11337	10557	8839	5332	9599		
	9455	5217	8901	5962	6050	10900	11801	11059	578	9821	11653	3449		
	4684	5740	3923	3266	2247	783	3906	1238	911	9782	6669	3056		
	3331	8118	5734	10367	9491	11323	6276	12005	9249	5317	10489	11752		
	7123	4021	6679	3673	10752	5998	10004	10887	7803	3768	10845	2786		
	1270	10072	4981	7207	2866	902	1837	11543	8433	8274	2372	6706		
	11025	9202	859	6833	3706	11172	9258	4993	7131	9538	4212	2504		
316:	2399													
	8724	5044	10558	8303	9909	12419	4296	12010	10150	6441	7879	1790		
	6993	7248	6491	1233	8304	3559	5660	11014	6121	7157	10033	9834		

(continuación)															
SEC ID N°. SEC ID N° de homólogos															
8343	623	4818	2695	8950	5944	8070	6179	7155	8476	7471	4735				
1999	3100	5671	2691	2148	10084	9248	7835	11562	2611	5661	7181				
6841	6612	11769	11372	12269	6349	7224	7867	9948	4404	8851	4016				
7750	11832	12148	11180	2896	9964	2111	3311	11733	5130	6634	3026				
11157	9412	3099	3498	5691	10021	6282	4159	2235	3506	6135	10583				
5471	7428	3029	4177	6845	5345	5775	3075	8251	1968	8338	10990				
9254	8337	9663	954	3674											
317:	3309	1527	722	3863	6557	9944	9740	9322	10027	1087	1070				
5196	8294	7902	1436	1367	8642										
318:	5591	1829	11695	9068	10423	11601	5883	4658	7572	11257	12196				
8459	8921	10876	12235	1905	856	7764	7158	8826	7552	10363	6559				
3049	10022	3134	11123	959	5622	6519	2482	10006	7884	8634	10070				
8473	6909	1942	5807	3129	11586	6254	1094	8148	1685	7743	3487				
6540	12002	11155	3419	11976	11185	8314	8820	10691	6859	6339	11175				
7919	10204	10947	3213	11850	3694	8055	9086	1409	4904	6427	9284				
7984	1606	10085	6498	12180	4930	5899	828	6794	8456	8300	2319				
10521	8577	1989	10299	4438	3051	4884	9888	1004	10552	855	4405				
2535	1499	5039	1597	8767	11625	5482	5559	9932	10570	2068	6563				
10524	12314	4977	757	651	11350	4768	9005	4429	4780	3250	8964				
5900	8137	2594	11961	9012	754	1230	10885	10536	5399	8142	6244				
2943	2168	1691	4435												
319:	8234	755	5743	11416	5655	10409	2053	6607	7820						
320:	9329	6305	6935	1731	3235	12440	12412	4278	1822	847	5334				
7870	10648	9544	12378	4268	8349	5812	8182	7802	11782	1218	925				
717	3215	2591	4985	1602	2996	2432	1383	3682	6516	11924	4415				
6860	6131	5268	7382	571	4888	3972	11464	10290	4716	9677	5653				
9087	7976	8046	2070	7624	811	6873	8268	7044	1659	10116	10088				
1282	8742	5145	5955	10182	1895	7354	591	8388	11998	5166	4933				
4983															
321:	2426	7091	11276	9934	4591	1667	7682	6262	1393	10547	1777				
12123	2176	7559	6552	4963	6164	4840	9408	2716	2793	891					
322:	5419	1980	10862	5179	8819	8830	6917	1185	595	6593	1568				
7678	4248	1342	4787	11039	12209	1773	537	8102	2886	1780	6969				

(continuación)														
SEC ID N°: SEC ID N° de homólogos														
323:	3022	2431	9990	8284	889	2883	601	9129	6056	3334	6536	489		
	10095	6789	2134	7294	9824	3856								
324:	4349	10326	768	6031	10342	4665	1943	8790						
	1807	6871	7314	1009	1853	3486	9866	10057	6759	6556	9450	7290		
325:	4154	5279	5478	11702	7771	12388	2031	9217	8382	11450	10571	4891		
	2887	2749	7969	1467	11587	4119	10940	6703	9822	10009	1458	10348		
326:	1672	4606	2593	3085	10400	12452	5312	8862	8090	10382	7674	7752		
	10332	11535	1038	6913	7099	3416	1507	5055	5806	4176	5817			
327:	9196	7256	12366	4110	10397	10333	11199	4630	4803	3350	4579	12192		
	9062	5834	5404	2669	11508	9233	2116	5182	2314	8990	3210			
328:	3079	1902	6763	6196	10297	525	1136	10317	8887	9143	6493	9364		
	6322	4750	5504	4828	2519	9913	10221	721	10417	8585	9033	4739		
329:	6515	11302	3894	10054	3781	7528	10683	4917	9992	11040	8730	10090		
	11452	6125	7046	6717	1544	8931	1612	6804	2283	1567	3563	3714		
330:	4051	9487	7312	5698	4906	9488	7768	10592	9266	1871	4306	6941		
	5085	3766	657	7452	2721	7222	2942	10732	7982	2495	5802	5023		
331:	12359	2051	7891	6362	11507	9238	599	4022	6595	7515	7974	3985		
	7170	5916	2462	5466	7960	1303	9959	5841	1153	6843	11521	1442		
332:	7399	2188	4833	6839	11489	5350	924	8774	2086	9533	3810	10807		
	4054	5228	7206	10738	4228	11845	9187	11075	3002	8384	7124	4747		
333:	10742	958												
	9919	4426	6725	7362	1497	4470	4262	781	6226	6466	3147			
334:	2983	6189	952	4334	3360	11105	2813							
	9520	5175	6428	1775	3228	2615	1674	1529	10556	12061	6180	1471		
335:	10413	11057	4958	5727	11103	6356	4687	3052	6579	7318	5171	10445		
	1884	4172	7024	6395	4588	3482	8574	3077	5684	4175	7684	8761		
336:	8410	11156	3963	8793	7076	11898	12294	4594	2505	7292	910	11927		
	10280	10853	2562	9290										
337:	5926	3535	9559	5422	9498	5418	11106	3035	8145	3788	3434	2958		
	4528	5307	2150	8390	6071	7591	11525	6824	12012	5780	7924	588		
338:	2542	12236	1781	3295	7747	10979	927	5393	5498	1232	6378	6060		
	5705	4565	4678	2892	5214	2604	8270	10598	3347	6773	1983	10666		
339:	5416	4535	2042	6985	12304	2254	12193	11445	8126	6218	11609	2510		

(continuación)

SEC ID N°: SEC ID N° de homólogos													
332:	8946	6891	10623	9150	9341	8952	10725	6292	8420	4743	1894	5205	
	8023	7887	10238	9213	8562	6182	1506	1558	1435	3884	10364	7810	
	6750	8165	9926	8918	11981	4257	6330	7446	4730	2526	2036	2270	
333:	7316	11087	8566	7430	8215	10884	617	11671	7403	771	5330	11210	
	874	2708	10986	8079	10214	8720	9937	9954	12443	5156	11161	11236	
	11274	3882	8213	11346	3833	1433	2146	5627	12305	6370	522	12343	
334:	6792	6740	4809	5925	4436	8130	3983	7141	11712	2424	10882	3292	
	10338	4927	7045	5949	1851	5053	3412	6405	9316	10864	5664	655	
	7325	5686	3063	3152	3401	7125	8904	7596	12198	2961	9424	7305	
335:	10419	3652	9133	3164									
	2706	10115	1941	10786	12217	1037	5649	6880	2468	8350	5120	11413	
	8965	2552	5150	1490	5544	5454	10388	10222	9089	2064	1925	8449	
336:	5369	6375	1883	7228	5106	10227	1628	11584	8197	838	2743	9261	
	1906	12437											
	5048	2893	1470	8587	9982	8563	992	5407	3472	9481	11433	6747	
337:	10703	3793	630	2029	552	9920	10658	11925	6440	10163	4087	4297	
	3477	11972	11551	795	10649	7128	11956	4428	2600				
	2895	11678	10073	8802	7383	1186	6288	6895	1846	3139	11160	7898	
338:	953	6648	2246	7020	7962	12043	10436	11144	11645	767	6783	4500	
	3097	9773	4921	1572	10510	3845	11447	895	9193	5457	6529	3256	
	1148												
339:	6394	10174	8413	2929	12463	7434	4194	2477	9390	11245	3690	7237	
	989	4445	4639	3312	10763	7760	2499	9922	11703	7259	5299	11517	
	2798	8113	4275	4259	1133	10427	763	492	11466	796			
340:	12363	12358	4801	8504	11079	9200	9918	2258	11786	8127	5101	9562	
	1375	10840	5449	7015	7705	1126	4355	9939	2626	1582	6415	9793	
	7240	9134	4378	5484	8595	1002	1960	7380	5733	12030			
341:	8296	10930	3512	4549	4311	3678	8316	12037	9411	6338	7588	1091	
	3445	10255	9984	2081	5707	7200	11607	9106	2524	11617	7681	10626	
	1113	2574											
342:	6308	8489	3318	5096	4024	12141	9463	2413	8951	4618	11140	6875	
	2236	11496	2869	10416	6720	6805							
	5401	12226	2834	3616	1217	7007	10418	5716	10594	2310	3910	4193	

(continuación)

SEC ID N°: SEC ID N° de homólogos

9768	6605	11899	8567	3432	6624	5099	8967	1439	9542	3431	1580
10323	1036	1177	11223	7907							
342:	8184	2250	6514	6940	6635	10785	7934	5709	2204	5402	1125
	4370	9392	11049	3287	10067	7632	6768	5285	7306	8805	7167
	2858	4232	3200	6964	4942	6830	6320	5638	10736	7545	7179
	7873	6641	2570	11995	10216	7050	3787	5272	6912	5990	1461
	4227	11698	1142	728	3685	3116	12289	9409	12039	3725	11595
	5366	3201	9379	11360	1739	9236	1011	5206	3835	10449	1684
	2915										
343:	10188	2007	2016	4350	7000	2306	6027	519	2627	4501	4773
	7047	2914	6721	10525	11664	4271	10554	9443	8053	9601	1757
	6957	9214	12095	8091	8158	9876	8185	3219	4001	10901	10380
	11232	6571	6321	7238	5509	6190	1481	11491	7251	8202	1424
	9430	1093	1539	8094	8491	12373	6691	4250	6326	4367	3120
	11992	9516	10384	11969	7443	9761	11954	11438	6884	8081	5689
	3693	9510	3198	3815	5420	1290	7955	7065	5890	4961	6062
	581	2686	3394	9435							
344:	6016	8669	7837	3285	8414	5003	6936	1823	11693	6756	1090
	7296	10903	8308	3336	11448	12311	5895				
345:	6350	10059	1792	10553	9871	4680	11701	1620	6685	5543	9189
	3089	2955	3239	984	6136	2550	2867	10379	8511	8936	7833
	9393	5546	1247	2344	6670	10229	5013	5216	9638	495	10870
	8502	10014	2097	5365	10925						
346:	10910	9252	7236	10747	8087	9568	8505	3422	11280	2828	
347:	9478	7851	9259	3554	9872	1549	5257	2227	10439	712	2975
	1371	3769	4323	2624	4133	1652	3408	3218	5867	4967	1191
	11187	1193	5545	11252	5564	1704	4129	7409	9529	9895	5213
	12184	11141	6986	1931	6585	3384	11504	5388	5954	3475	12215
	10107	7680	12113	1006	6968	2578	12021	11605	730	9840	
348:	11699	890	7060	5408	2025	5553	6088	1171	9536	7944	2585
	6626										
349:	4581	12427	4118	10579	11017	8438	11054	5359	3828	670	11094
	10308	7001	4034	901	2667	4970	1542	3173	3981	3355	2383

(continuación)

SEC ID N°: SEC ID N° de homólogos

6150

350:	11417	1710	7143	12413	4143	1380	5658	4141	2529	689	12054	5683
	8670	9716	7767	9724	804	8261	1972	8448	12347	4600	6403	8928
	836	6849	7254	8646	1538	4115	6751	2245	5315	1289		
351:	2222	5633	1475	12182	10043	6299	1275	10135	11560	8411	4729	11979
	10980	11596	1161	3153	2759	2928						
352:	3872	8759	1601	2322	6250	5881	8675	3496	10136	8605	7855	7819
	2394	10960	8041	11325	11502	4391	2074	10684	1169	10878	8550	775
	8673	3320	8355	8001	8863	1030	9350	6478	9459	4688	4136	7283
	9853	9923	5566	8153	7558							
353:	10729	2481	11933	3274	9399	7657	12414	6573	2679	4924	12348	2129
	2299	3695	5412	9744	4871	2663	5923	2674	1178	1213	3849	2812
	10001	3040	7938	1696	4418	1816	2257	7555	2598	11267	1432	4946
	9786	2875	12110	3799	4560	1737	10215	3437	3598	3230	8884	11290
	7198	9757	1742	10197	5169	1351	9201	5459	9239	6426	3909	2267
	10834	7698	6068	6956	11540	7030	4097	10678	1428	9789	5995	666
	5811	1503	12315	7385	5947	12398	5400	6539	11174	7393	8239	3812
	1653	10532	9596	5128	2417	4137	2861	10966	9180	3986	1263	2984
	9218	8933	5833	3661	5314	2161	5284	4800	7097	9081	2924	1699
	6281	8441	3435	8639	10284	5275	8084	8781	8537	1919	11367	6958
	11592	3615	6817	7464	2180	11746	11385	11558	3797	12334	6057	9651
	8955	8992	2857	9806	4886	7824	4487	6178	9130	3375	9905	1398
	6760	8464	7732	4224	2586	5502	7432	4857	10490	7225	10228	9110
	2758	4533	1779	5049	2878	2816	8666	8986	873	7639	11037	9989
	8794	11928	9425	10771	5714	7804	5127	747	4868	4427	1259	7243
	1489	5103	1546	1887	4898	9628	10306	7507	3959	1423	9192	8092
	2190	11640	7115	10231	562	2155	4284	2253	2213	1116	5381	3855
	2045	7900	8283	6510	10386	8440	4365	11779	8018	4992	1449	9564
	10995	9255	6769	11406	1040	5650	2768	10855	7041	3867	9767	10335
	11169	11871	3491	7880	6921							
354:	4928	539	6076	7626	2465	8883	12086	9675				
355:	10941	5827										
356:	7899	2286	11193	1590	4944	8228	5230	8377	10663	6499	7913	3914

(continuación)														
SEC ID N°:	SEC ID	N° de homólogos												
357:	3330	8929	1366	6532	5461	12302	2425	5550	7472	3786	9953	7359		
	638	2439	12129	3601	10559	5320								
	9769	8015	4161	2360	7713	9049	5894	1492	8881	9292	6846	11197		
	10179	5547	7991	1577	10964	995	4854	2078	8454	11277	7270	846		
	11149	4711	8179	8940	5875	4163	8004	6019	3517	11480	9759	11982		
	2443	7831	6866	520	10288	11721	10794	5184	9263	9227	7967	6704		
	4726	12229	12241	2761	2548	5888	5798	1304	4558	10053	10279	7726		
	2371	8763	11964	1440	11352	3185	10955	5377	2392	1330	6764	9999		
	7932	7710	1216	833	2822	1258	6423	1610	9479	7241	9311	5974		
	5542	12079	11012	6111	2738	2779	9294	616	6406	8857	4171	4185		
	7448	6154	2581	8570	2912	5060	5572	11258	6898	3143	11849	7311		
	9897	8778	4540	3875	10589	3523	10101	9704	9915	6361	3492	5763		
	946	10099	11632	4390	4475	6157	10420	6455	8280	11246	8247	5118		
	11855	11044	10706	2632	7589	7257	8483	7583	5337	11797	9735	4686		
	10244	1413	10049	7841	4148	1205	8981	2705	2841	3059	10241	511		
358:	6765	1196	3400	4548	1293	4870	8298	6870	7601	3758	1806	6713		
	7895	9746	11440	3296	11135	531	12232	6959	7712	2528	10944	4544		
	6844	12396	10265	7950	7862	8733	5434	9512	523	6422	4564	2037		
	4559	8460	10141	8241	6939	4947	5088	3115	1152	5316	9093	12321		
	2484	570	5793	11604	7268	4359	6138	1899	8219	5061	1784	10748		
	7525	9250	10620	7416	11644	8451	5301	7048	3817	615	9384	4912		
	1646	10461	2840	9147	6007	6548	2734	8712	11513	6640	6099	8335		
	5174	8138	5809											
	9456	10091	8818	9686	491	6509	10041	5375	5497					
	1799	8105	6680	5822	716	9622	6488	8882	6249	5621	7246			
	714	4732	1511	9059	11326	12188	3337	7352	9720	8923	3113	2381		
	688	11186	6294	11728	4873	12114	4636	8596	1858	4552	7753			
	12275	7578	1271	8220	517	6822	11492	10740	8915	1237	7313	6003		
	8089	502	3632	6236	800	2290	7104	10731	10208	8285	9695	2429		
	11179	4061	975	12345	3469	4432	6660	11019	6525	7694	7153	4766		
361:	7563	1551	7850	6954	9960	5047	10767	11958	9620	9043	1269	558		
	11895	9231	2972	4156	5700	2228	744	4646	834	12048	3418	2115		
	9996	2315	12024	8896	3724	2033	8309	12022	8056	12152	8698	596		

(continuación)														
SEC ID N°: SEC ID N° de homólogos														
	12222	7183	10896											
362:	3074	9370	4079	5426	2409	3958	6274	3117	3264	8655	2301	6897		
	8397	1864	6452	8528	2090	4208	4000	6705	10758	3971	11095	11734		
	10908	5836	11366	11983	3945	10695	10698							
363:	6232	8229	5094	2536	8195	8305	11129	7370	6651	10713	12329	10502		
	3869	1362	12428	11633	4386	1833								
364:	3918	9184	6928	11422	9880	3754	3316	5448	6234	5494	7231	4443		
	961	9464	2019											
365:	5176	5308	11795	12263	839	8051	725	738	1801	1487	5073	10122		
	11570	4047	3557	6291	7582	8394	12237	5501	8878	4245	8257	8779		
	3803	9036	6984	10692	10346	12011	3038	3889	1145	11293				
366:	11753	3016	2911	5829	2185	9537	11999	6447	2243	9823	5031	9323		
	5143													
367:	1672	4606	2208	2593	3085	4608	5312	2365	4258	1108	7780	1474		
	2670	6672	4877	8116	4113	567	5844	922	1507	5055	6371	12297		
	5806	6153	4176											
368:	1637	6662	7275	12072	10534	10235	7477	576	4547	5695	11725	11041		
	2144	3637	8866	3065	12238	12051	11021	6537	1315	1024	2776	5470		
	5271	11906	5583	5907	9609	2444	4763	4066	12204	4410	5862	4046		
	11455	6668	4742	6937	5198	6748	6490	3031	7966	6454	6436	2497		
	7737	818	11952	5274	2207	6707	5151	1248	6284	3067	575	10007		
	2991	1336	1312	600	9022	3545	10301	8325	11648	2573	11182	7903		
	12047	7980	11206	3655	7216	11534	8589	2655	6075	10114	2052	1673		
	9678	7502	7151	2295	4856	11942	2868	4169	11253	8689	12295	10478		
	7533	857	8484	7778	8608	4112	9338	837	1936	6393	8245	1834		
	3359	861	10811	9277	8301	2937	10010	11536	853	2242	3345	4826		
	5960	5105	8612	4918	883	8756	6790	2420	3917	11919	10002	7083		
	9966	7808	4384	6867	5608	9513	3877	7763	488	9339	4829	518		
	9901	8154	3676	8495	2121	9977	12277	5725	4140	1444	7439	12357		
	4332	3531	2839	10627	2826	5935	11544	9962	4569	2554	6850	10074		
	1553	2184	7145	7918	9156	8271	6902	4199	9774	10303	11493	8249		
	6239	5059	8701	1162	5882	5987	3718	9160	11007	7067	4939	12064		
	11600	1202	2849	3317	8129	10239	10865	1962	6325	4691	9302	2234		

(continuación)

SEC ID N°: SEC ID N° de homólogos

369:	9123	12322	8457	8979	5670	3024	4440	9560	5885	3421	4265	11628
	2280	12332	592	1494	11523	1244	2523	6110	2231	5437	551	5409
	6716	4573	3839	10422	8275	8588	737	9262	7487	5465	7493	4534
	11266	10727	7828	11115	8002	5225	10562	8378	9400	12224	7420	8290
	3780	6224	11462	2397	5411	8797	806	11718	7378	12283	9921	6854
	3333	10881	9100	1559	11751	8944	10954	2226	7330	6079	3924	1099
	2694	1412	5610	6149	8696	3607	7008	9274	2442	1729	1453	11468
	8334	6233	10632	7636	4455	535	1073	8699	9325	11585	9441	4294
	4236	10498	3813	7263	7939	2030						
370:	12323	718	9099	11577	11908	9361	7271	12027	5331	8889	12136	6562
	7298	10254										
371:	1105	10455	3073	6977	4330	5374	2173	10058	9053	6486	2474	8879
	4004	7530	11226	11126	11987	10782	10535	4210	5472			
	3659	3717	5958	5227	5173	563	1974	11405	2411	10256	11147	9698
	1595	3775	3388	7148	4862	7827	3850	8768	5847	6009	1598	5296
	2435											
372:	10050	9750	10875	7497	2584	2941	5460	8412	2471	11342	3448	6615
	4344	10212	11030	8614	1464	10355	8387	6526	3483	5803	3900	4887
	12318	10250	10765	1081	7302	3451	5781	8856	6456			
373:	3742	9841	9366	1717	10514	6445	2098	7489	11807	10922	2004	7092
	5699	5406	9352	1306	11743	7252	4103	1291	9039	3402	7490	2927
	4815	5718	9085	3587	4252	12361	1119	11527	6757	6177	2117	957
	1619	7647	8758	6103	1550	3373	4234	8442	10275	3397	919	10491
	8000	9483	5624	7353	6772	8995	11944	3528	11162	6346	11389	10330
	12218	9741	5986	6424	9046	11148	6134	5934	9327	6745	1192	8662
	10515	759	5589	1023	8465	8035	1001	7307	11719	7387	6332	2820
	12268	11591	8391	6081	3757	5736	8020	12109	10194	1220	11399	557
	9619	12369	6998	10519	6297	10023	2635	6815	4672	1753	9523	3481
	12171											
374:	2263	8253	8529	2957	5854	8654	12242	1321	9319	8683	5453	4689
	8478											
375:	6965	11170	1791	4291	11390	8902	11875	6799	6266	9014	11320	3805
	5529	4032	8287	11865	10167							

(continuación)

SEC ID N°: SEC ID N° de homólogos

376:	4414	8762	11259	9504	9784	11748	5341	9107	10327	1525	9644	12240
	10723	1910	8082	6558	9736	7526	5682	6365	6386	9545	9617	6173
	7400	11050	12004	3364	11569	8475	4872	1043	9671	1955	4256	2500
	8467	10828	11694	8568	9268	2855	11353	9054	2577	7462	1663	10479
	11794	11561	7197	11386	2607	9614	1643	11100	7336	4389	1201	10178
377:	5305	5158	1726	7617	8705	4366	12092	7504	11434	7904		
378:	7791	5199	11173	10410	12364	4074	3537	6151	741	762	3820	3868
	1629											
379:	8873	4792	3802	648	7890	7159	3112	587	9007	3183	1698	6097
	6555	5115										
381:	3204	9368	2597	3132	8678	3380	8421	9867	10548	4247		
382:	11124	1434	12462	4719	11190	12213	1457	10349	5414	2201	629	10253
	2904	9701	7085	6219	4861	5765	7175	4363	6087	12403	5209	644
	5425	11916	8134	11897	11316	9508						
383:	8186	6269	9355	11705	5262	10621	8036	3610	2124	9722	3871	1741
	3293	9385	9781	6364								
384:	10959	5098	5436	9777	2795	3974	11831	7152	1401	6574	7742	1793
	5222	5508	6900	12449	9310	10787	10837	3205	11388	9547	12014	4307
	8890	8402										
385:	11531	9198	6864	9815	8024	9374	1209	1771	9211	8255	6256	9337
	10996	8496	7172	8276	9452	1945	4713	4611	9224	864	7916	3171
	5590	2342	6484	9458	9525	8711	5971	6313	3830	9611	1348	7495
	11484	3667	1068	10307	11676	7425	4337	3776	2715	11741	8903	3713
	10572	2520	4409	4568	9662	10575	9713	4522	4201	9353	936	7455
	3127	9055	11472	2804	2485	5992	7546	5787	1614	12272	820	8199
	7565	11045	5264	1051	2219	7215	5054	4622	12247	6046	729	7607
	4563	2792	2126	7328								
386:	11268	6449	4644	5349	12159	3613	7832	3553	10905	7536	12202	990
	8235	10686	2456	2603	2327	7754	12260	3458				
387:	2041	8848	2909	5750	7062	4627	2566	7094	2141			
388:	817	9679	3392	4988	6465	10879	9281	11631	1000	534	10133	5512
	10286	2050	7915	1818								
389:	4812	3006	2832	11649	3536	8821	10336	12335	5851	1395	1668	4183

(continuación)													
SEC ID N°:	SEC ID N° de homólogos	9732	3319	799	2877	8991	8968	770	5606	12115	4496	7805	6408
390:		6388	4134	5270	827	7072	8775	9001	7871				
		12454	3012	6026	11219	4005	8748	9818	11892	12191	2496	6715	10737
		12145	3276	5188									
391:		8545	662	1325	8282	5909	2352						
392:		3087	1402	9975	3048	11515	5142	11356	11860	8331	1322	9492	4784
		2179	2266	494	4286	794	10808	5496	7186	3629	9467	6453	2765
		678	620	3062	4408	7878	8400	7106	727	6473	9963	2035	2329
		1505	1184	9006	586	5387	7630	8564	4111	10667	2540	831	8752
		8741	4285	6108	4478	4676	10888	11470	8906	11374	9804	11082	12059
		10716	10951	5568	8984	6565	5677	5668	1692	12299	9991	5144	10080
		3759	7077	10211	4790	4990	5612	8143	1228	5168	3596	11402	7494
		8578	10799	9580	4424	7560	3595	6156	5757	4823	9770	8546	3396
		8716	983	9875	5474	9798	9660	5632	10938	8351	6228	1658	5249
		1655	8782	11119	4708	5361	3238	6045	7505	11188	1130	5358	2458
		572	11949	11349	7315	6368	10143	6467	10184	7817	10408	9191	10195
393:		3913	5575	2363									
		5476	3156	7848	2476	2917	2879	3307	12433	7564	3663	7337	5783
		8492	653	10313	3936	4150	6230	1268	618	12371	6907	4781	10328
		5762	7523	7610	3953	11848	8038	5291	8207	8717	10645	3175	10077
		5355	7843	12205	675	8025	10802	4230	7442	11996	6699	9826	1847
		1129	9828	7023	9128	7245	5886	8159	4379	7579	4577	4293	3338
		6458	3801	5160	6767	5447	4196	5382	6407	1389	11917	10248	2377
		740	10316	4945	3203	7608	5178	553	2461	2973	10111	2127	4848
		1026	11706	10753	10183	11627	9775	2703	7978	2569	5828	5451	12455
		1456	11283	1701	8844	710	9094	3956	4188	3166	6451	10587	6671
		8321	11032	8064	10543	991	3456	5983	8160	8490	3876	3675	3848
		1007	7687	780	10198	10170	9502	7586	4377	10544	2163	4597	1857
		4260	2760	6049	6397	7101	7829	3057	11110	11974	2218	830	1965
		4585	7985	5385	3665	11516	1085	8026	10270	8959	677	4810	4525
		8508	2647	10777	11654	8066	3608	8630	5491	9485	6865	11842	3552
		7034	11656	11707	10172	11547	10144	10762	11451	8610	12102	10271	8345
		6410	4709	3036	11819	1441	3088	1483	1727	12139	5187	5912	7309

(continuación)													
SEC ID N°: SEC ID N° de homólogos													
5324	6561	9499	12155	7758	8109	6547	7609	2043	5351	7456	5256		
8175	4504	4817	512	8191	5510	8969	6036	2631	12120	9623	627		
3298	9413	9691	6673	6028	6089	12168	8409	1374	1143	1523	1957		
1239	964	8785	4339	6876	10707	3619	1937	5233	5129	9195	3743		
12420	6343	1970	10813	10784	765	9308	3751	556	2539	7584	11347		
4941	8101	11764	2087	8554	5556	8656	5011	8371	6231	9375	1688		
1277	1863	6863	2464	8658	6914	6506	5975	2599	4775	2970	10102		
4056	11171	6469	4664	5520	4233	7877	11046	10362	7882	3399	4648		
11663	8204	5826	6600	7417	10655	2645	5846	11520	908	7676	10289		
6927	8934	1600	2256	5082	2966	11209	8256	5100	5234	7616	11269		
4679	6851	11874	8281	6417	9440	8060	4903	11306	10096	7188	3960		
4609	5752	7834	6130	9279	5037	4499	8894	11304	3703	9835	9539		
2198	11027	7792	12223	9024	7561	506	2965	11735	1324	2059	3597		
5933	7100	11400	7740	8760	4225	6430	12071	11429	9553	7828	10142		
2328	9801	8953	2978	7185	8005	2047	3834	9754	12283	4712	10223		
8557	4996	6289	10585	8497	4486	7374	3069	4157	12169	8806	8617		
4723	7812	10588	3480	8341	5952	1251	8110	1019	11680	2191	9276		
8947	2803	2269	10226	3199	4629	8357	1356	973	4949	7777	5004		
5617	2910	1088	1131	4382	8944	4557	4576	7734	2385	3453	914		
4305	12150	6718	5647	9307	3749	555	12257	8626	5808	9903	1300		
7723	5794	3600	3572	12280	9079	6828	2662	10017	2676	10406	12128		
10605	6838	11469	6107	8242	8927	4901	11985	10954	3043	10030	10822		
9993	8485	6944	5708	8339	3658	11312	1715	8106	3436	5946	11078		
10835	962	6414	6168	1486	8813	8569	8218	9842	6652	12194	7813		
12243	1391	12065	9965	8869	2811	4663	5729	10447	1650	7956	8517		
9796	4943	6065	11108	2099	7220	11806	7844	10633	10898	7691	10676		
11939	2085	6287	11789	7317	9670	5329	1498	8582	3824	2027	9148		
7379	11715	5373	10207	8534	7177	4948	4624	11841	2311	2071	5014		
10889	11736	1357	3007	1412	9396	4515	11403	6535	6006	3561	5265		
5932	8572	2034	5253	1973	1662	6198	3688	10809	1225	3208	3638		
9790	5879	6253	4178	7414	668	3932	6039	9240	6497	707	1809		
11817	7266	10531	1832	5033	3501	5124	9856	7284	3779	1313	4142		
1504	1828	5364	11080	3912	8681								

394:

(continuación)

SEC ID N°: SEC ID N° de homólogos

395:	2323	4956	6172	1800	10801	1060	12405	2783	8187	1288	1426	1541
	7327											
396:	2709	1262	5083	2123	6530	9041	4778	2821	7509	7002	5183	8935
	10971	3687	4584	7122	1820	1513	2355	6762	5579	7856	1115	5240
	3881	11329	12212	12006	766	10294	2974	10120	11070	3994	5346	3478
	10739	2935	1476	9938	11383	2621	3950	9141	5528	5357	11499	745
	1034	9885	1645	7498	1798	10268	9242	8855	6677	12391	6300	2625
	3980	8755	10123	7014	12133	2946	2967	10063	8021	6070	11870	1898
	3474	2387	1138	6433	9405	9703	9865	1874	4997	11912	5823	604
	8941	9683	6637	12124	6925	8278	9421	10643	9728	11590	3033	10708
	9776	8259	2133	7201	3141	5604	1622	8625	10177	6435	10473	9584
	2288	4984	8665	9021	8432	687	6024	12375	4604	582	12078	4508
	9765	6109	2262	7347	11526	10717	3324	4304	9063	4731	11766	4550
	12438	9125	3246	4523	4740	6617	6217	2075	3723	10468	7469	11216
	4467	6684	6929	3341	7729	2494	8780	9642	5236	2642	9639	4643
	7255	10492	12091	6586	2507	1360	8408	9606	8925	9280	4050	5290
	6048	1344	5480	8533	9429	9377	3814	9779	9289	10403	12121	9222
	7784	11901	5095	9111	3096	9372	5032	7728	10242	9788	3704	3808
	4797	4656	9489	10368	9621	5816	1339	1111	1964	11335	8067	7935
	12239	6505	10285	3691	9985	5843	3202	4605	7470	11265	10983	6195
	11511	577	8370	3313	2388	8463	2255	3614	1759	5093	8364	11117
	5702	4264	6761	6682	8829	7402	8431	11858	656	8007	9145	5063
	3174	2324	4303	3792	9884	6775	6001	7675	9634	9313	12028	11308
	3159	6974	9168	5749	3021	10836	7671	9461	9910	4300	11055	8265
	9140	312	3955	1431	2547	11090	10475	1447	3005	10528	9968	1287
	11505	9648	3745	8077	8329	6678	8177	7182	12399	8672	11808	12050
	10956	4702	2366	10340	9869	6899	8192	11495	5245	6132	1730	1207
	1466	6758	3193	9040	632	3671	7925	5595	5108	3071	1253	9131
	3977	1966	1103	11163	5831	4583	12383	4593	7113	9309	2862	11829
	6185	7597	10496	585	7603	3798	9118	9291	619	660	12183	3679
	4463	2345	4214	7958	6700	3735	5190	4957	8042	6476	6812	748
	8888	12104	3902	6187	3251	5321	8124	2102	4539	12077	3925	3859
	2490	11859	10721	6259	11136	6176	11198	803	11343	7496	11610	5936

(continuación)

SEC ID N°: SEC ID N° de homólogos

4494	5353	8726	11033	5761	879	5433	11442	6639	7136			
397: 11768	5972	8910	6923	1071	11851	3710	1869	4352	10083	5081	5356	
11051	2289	4439	7568	5405	4287	12135	2238	2944	1840	814	1365	
11685	7720	2450	9029	835	6444	12097						
398: 2241	3444	6018	956	10922	12070	7756	10305	2233	4152	1831	2888	
9085	7130	9343	10869	4488	8664	5915	1687	8817	11945	7519	11722	
2340	5215	5565	3125	1158	10459	10104	9271	3962	6008	3648	1644	
7928	2589	7139	11905	4777	9004	1700	11514	11036	4652	4910	8706	
6911	5860	8837	12199	7806	6227	4073	9973	2733	11001	4677	8312	
7287	10325	521	6781	1491	12453	10517	2560	7057	3111	1821	5721	
7273	704	12186	2164									
399: 548	9300	9554	7547	8636	11881	4081	7368	10874	7147	4338	2672	
11463	897	5276	4009	2799	1012	1575	5022	10933	5070	6434	8834	
8406	5201	8190	12049	8181	514	4751	691	1767	6329	11877	1680	
10586	7377	2658	9232	480	8714	4954	3145	7995	8236	3581	6223	
10411	5267	7422	3748	2852	8424	4634	6391	3124	9163	5748	6437	
9868	11575	7517	10741	10982	8916	7693	1140	7885	554	7514	3442	
1603	5029	5123	8183	4909	10055	4431	5473	7168	4270	7849	7531	
5394	7411	10616	3995	2860	9151	4699	2282	8849	8250	5746	4599	
6543	8198	12459	12279	607	11063	1212	4450	2899	3979	9037	8939	
2885	8016	6074	9176	4764	1418	6932	7599	640	4267	10800	1961	
1175	9484	1927	6577	11918	5133	8223	3567	5066	1789	8592	9415	
1359	9807	9047	4922	8086	988	3032	2572	12081	9637	4095	2630	
6483	11583	5674	11611	9987	8434	6803	8317	8909	2060	9595		
400: 3594	5858	6163	8162	5298	6877	9676	7641	7335	11393	3236	10613	
8880	928	5961	5117	5323	11677	7040	9672	626	11053	10989	7333	
4094	8536	10370	10189	6608	2659	11501	2780	5252	1180	2806	611	
5273	698	9186	8885	813	8008	11483	1722	5973	3970	12157	3681	
5384	1502	5038	7864	9886	12360	10487	3582	6067	536	9997	11573	
4836	5853	11038	2661	8809	11980	1396	1350	7475	7888	12350	2466	
6947	6793	9650	10087	11195	5024	789	2707	6485	8289	5193	1462	
7392	5069	12069	10754	4717	5452	9067	5340	7623	3952	5417	11597	
3826	5648	11720	4998	9061	10975							

(continuación)

SEC ID N°: SEC ID N° de homólogos

401:	11218	10912	3778	3297	9967	6495	12167	12233	9791	6623	9588	10369
	11113	1522	4935	3583	5697	5283	11315	1860	9530			
402:	7156											
403:	1556	906	2463	4200	3646	6052	7351	7138	12208	3362	5601	4063
	9933	10137	4783	7869	11375	3335	6733	12390	11524	11659	8359	2685
	7053	12265	11011	7166	3975	11317	4015	4255	7397	5041	12284	10201
	8893	10113	6482	4013	11697	6646	7815					
404:	10847	2334	10082	10701	2901	11454	6589	5539	10131	6475	2653	10407
	4346	9358	3370	3643	685	3626	10187	1272	7016	3516	12325	8216
	1736	7213	12278	12341								
405:	4331	4736	7999	9625	7541	3731	10849	4158	11047	2576	2894	9714
	4155	10797	3770	8814	594	3515	7669	7539	7108	1782	5440	12122
	7376	5681	4269	10893	8383	2313	9571	9251	793	5819	2865	11777
	11121	10635	4551	8870	7765	6238	1046	8072	6340	5533	8503	3172
	9743	9558	7818	2335	4582	2249	4863	7646	6380	2304	9881	1855
	5057	11868	9613	2480	8523	10079	10398	6542	4114	8769	8798	4484
	2217	6122	4417	2193	4381	10252	4498	11771	5626	7095	3326	7825
	11761	12245	6606	3489	1155	10949	5767	7861	11486	9381	4554	2297
	11621	12066	10744	8732	5582	6819	9146	11127	4109	515	550	5855
	4340	1648	10402	11498	9972	4832	3467	5797	2114	3395	9179	538
	5186	810	3386	1331	631	9471	6946	11710	8206	2521	3777	9766
	1713	3653	1921	6656	9947	8993	11250	11151	10497	6934	2737	6862
	11088	3984	7363	10282	743	9608	3919	1981	7086	1454	4396	5114
	10991	4459	7881	6848	2296	8912	1805	3511	8065	1761	7132	6910
	10730	5195	3930	9587	3635	1390	3281	9154	12431	5562	2544	11742
	904	5957	8429	7356	9493	881	10094	1121	5637	7367	5392	898
	9656	6463	3636	11365	2616	8771	11943	8085	8559	11564	4481	10783
	8994	2809	9583	9144	8425	2285	11557	4876	12312	4919	7482	8180
406:	12179	1132	4407	8525	8006	6599	6212	6582	6696	10015	8938	12040
	7174	5901	5443	8772	2754	1018	701	4168	3866	2830	7410	8541
	4867	12127	4786	2881	993	1626	10257	590	4613	3686	8232	10988
	8611	6659	11951	11970	5790	694	1950	8687	3243	1611	5068	2583
	3374	11300	4978	3290	4685	9245	8524	3226	3564	8297	5791	10743

(continuación)

SEC ID N°: SEC ID N° de homólogos

5514	12404	4160	10761	6264	3455	7381	4530	7088	11724	1340	12221
3372	2172	9900	3009	6215	8149	5967	4031	516	2159	6152	2119
7625	5636	11581	10329	3927	6951	5300	1666	5792	7176	1908	8776
10334	7755	4489	4839	7621	3504	11772	2455	1709			
407:	5164	1712	2856	7349	10129	568	7679	2988	11811	1995	11589
	10850	4503	1298	1746	10650	7429	10880	3268	11798	7896	3503
	10856	11820	7004	4010	6035	5519	12333	1022	2020	5260	8174
	1100	6002	852	2265	1280	6023	3217	9083	2999	3784	5278
	5773	11107	2778	9893	1283	9158	4760	6513	10372	4789	8368
	7638	5532	1078	3476	6243	7947	7219	3013	4542	7485	5050
	10180	2741	9397	7909	8653	8161	7700	6270	10424	9386	12053
	2551	4239	7195	5742	10387	9943	10591	12293	8401	598	10190
	1518	3262	8393	9357	10634	8622	792	5503	6749	5779	9627
	8899	894	3609	868	8379	7943	6084	8171	5415	10619	5830
	8058	11606	6777	5615	8385	6352	5732	565	3042	4825	6372
	11714	8638	9414	6904	3698	10607	3354	3248	11099	7933	2618
	7997	9721	5710	7081	12401	11254	3611	5832	6837	3494	8037
	4520	10630	9206	9326	1194	12033	1368	10356	3752	2069	4191
	11510	2671	4989	805	10679	2579	9477	4068	9127	5744	2044
	3843	7704	8248	1156	12007	10035	5766	4610	11421	7453	8264
	2829	2728	5859	4491	6872	10873	11437	4497	1179	6983	809
	680	11745	10224	2441	3485	10593	8293	11196	4444	787	9912
	3466	12067	11522	11328	10705	3103	11637	7146	7013	12203	7272
	11183	8872	2339	3689	6439	1564	2891	2326	10816	2058	9167
408:	6842	10832	1752	6874	7652	10728	8591	5091	1745		
409:	3390	11580	1139	2740	7297	8096	11461	1994	9590	10039	4519
	1327	5914	1924	498	11643	2492	10450				
410:	2556	8787	2810	2752	849	2525	848	543	10440	5587	2687
	10565	7329	4633	10365	1013	9911	6199	5552	7253	3387	6581
	6753	2212	7451	10191	10472	8604	3947	1318	10341	3903	4192
	782	4804	4555	7605	5072	11652	11756	10926	3556		
411:	10755	6544	11218	10912	8555	12233	12167	9791	6623	10444	9588
	10369	5824	9682	7746	11642	9212	4935	5697	8715	5283	11315

(continuación)

SEC ID N°: SEC ID N° de homólogos												
	4900	12457	858	10937	9530							
412:	4734	2240	9031	2437	8481	8643	4962	4203	7203	10390	10086	5814
	11371	10513	9742	10945	9859	1632	1615	7063	11339			
414:	7193	8549	8168	5092	8861	11989	11947	11178	5786	2453		
415:	6653	6714	9983	4083	3854	2748	7708	9764	5629	981	3439	10469
	7346	4782	12349	3163	8949	3899	5805	10540	5864	6450	7761	12090
416:	5874											
	1842	3162	8971	3427	6054	10217	8729	1754	6622	7952	9382	11862
	7142	634	7239	8770	4506	8586	1200	6367	2113	12058	3323	6474
	3605	8047	4705	8976	2623	6722	2275	9503	11414	7230	487	7173
	6327	7450	1086	11139	10969	7580	6856	10788	9715	4755	2923	11730
	12425	3020	5599	9044	7078	10584	11212	10871	2684	1969	5930	6055
	4070	639	11128	1295	7529	2775	2543	11636	6598	1208	6425	11359
	3998	6252	8348	11758	8667	7592	6546	11716	6560	10277	7395	10601
417:	9873	5107	10240	5208								
	6345	1856	10958	11096	10013	593	11755	7187	6816	10906	1199	5652
	8452	7056	3701	11373	3562	12181	2950	10597	8606	5254	8728	4082
	1210	7300	3896	12382	9952	788	11241	10507	11750	3136	6728	9465
	3722	12351	6337	3008	8858	573	10437	1050	3645	9808	9256	2509
	11883	4020	11479	3254	9727	4044	12460	2628	12255	8136	5704	7735
	9066	7332	5711	4229	1182	1576	3656	11805	11485	6960	6101	2011
	8111	6996	4209	7129	12307	481	8243	5287	7912	10962	703	
418:	3811	5219	1679	4621	4127	10675	6404	5800	3921	6511	9681	903
	10538	3558	4466	6175	10545	5132	2921	5857	12143	7941	7286	11968
419:	3771	8363	9548									
420:	1485	4911	7178	9071	11509	6647	1721	4460	947	513	2348	7249
	11150	11747	2997	11191	11443	3662	8453	2753	11791	6481	11420	5483
	10462	4788	4507	8877	4008	11334	8575	6731	9135	6192	2317	608
	5979	3055										
421:	4414	9504	1165	5341	9784	11748	9107	10327	1525	12240	10723	1910
	11286	6078	6558	9736	7526	9617	6173	5966	5586	6120	2380	9205
	6319	7575	10097	11594	8356	9671	2500	4722	2986	4959	6245	3949
	11353	2855	9054	2577	7071	5896	11794	11561	7197	4389	7336	1643

SEC ID N°: SEC ID N° de homólogos															
(continuación)															
1201															
422:	6674	12454	8443	3602	3012	6541	10495	6389	2952	9267	11311	12145			
	10737	9521	3700	3883	6429	4242									
423:	3471	3462	11861	2211	7320	5075	4333	1836	6400	5796	4892	647			
	3269														
424:	5926	9559	5422	9498	5418	11106	3035	6102	6592	2150	8390	6071			
	7591	11796	9586	11310	4368	5758	588	2542	1781	12236	9803	7747			
	10979	927	7683	3965	4678	5214	2604	8270	3304	5616	10831	2393			
	8080	4535	3410	7371	11565	2493	7055	9785	2720	5980	10682	7295			
	10506	2982	10793	6985	8126	6218	11609	12193	2042	12304	2254	11445			
	7375	2510	8946	885	6891	9150	10623	9341	8952	10725	6292	8420			
	4743	1894													
425:	3122	11494	10549	2650	1897	3804	5390	1379	3184	3716	2654	10037			
	1473	9971	2731	5778	4313	6129	9561	10606	10693	8120	4938	4049			
	4060	4413	3409	3015	2351	1939									
426:	11847	2995	4737	7277	3895	5688	1959	4452	843	6336	3128	11563			
	2964	10486	7718	8069	12080	6015	8205	10512	2963	888	9812				
427:	10318	1515	1150	11130											
428:	9750	6331	3027	10875	3668	7005	9306	12430	6106	9190	654	1670			
	9862	10048	4319	7716	5492	6892	9026	6462	6737	6645	4749	10098			
	12000	547	7562	6456											
429:	6568	8052	10608	1308	9065	8831	7384	8709	7350	4327	10609	12288			
	9820	4100	4795	11684	7622	9929	1098	3192	4059	9182	8353	9417			
	7137	5152	11660	2940	11467	2933	6145	5109	4388						
430:	8584	2261	7656	2018	11538	9342	12107	12164	6293	7936	1661	11624			
	4853														
431:	9116	2171	7602	8690	9883	4473	6085	10435	6301	2203	9928	7190			
	10147	10470	1862	2182	932	3025	12251	8266	7662	4231	8640	12434			
	2151	4372	1033	9126	9810	3495	509	7612	5354	10770	10651	987			
	9365	4813													
432:	7570	5554	4754	8362	2230	8469	9220	3329	6080	4356	9349	7994			
	5043	887	9216	8097	4101	3358	10171	3190	10790	1501	501	2633			
	8399	9527	6324	3571	7233	5016	1930	1811							

(continuación)												
SEC ID N°: SEC ID N° de homólogos												
433:	1616	6093	10298	1333	9124	11229	6566	6576	11833	11357	8833	6618
	841	5759	1301	4182	6040	11022	8365	7079	6280	10112	7920	4834
	4980	3886	8075	5735	8404	1617						
	4462	1934	5148	10841	4816	5523	7587	9228	2939	4241	10393	11815
434:	3818	4301	11539	1425	3957	11067	6304					
	7874	3332	1892	10839	1297	5020	4526	2872	6273	7274	6987	11568
	2916	5869	4913	5518	8150	7269	4374	7658	5945	5159	6063	4277
	3391	8028	9423	9197	2132	1694	3525	11460	1307	7893	12353	5297
435:	10567	12185	11482	4069	10140	6113	4710	8613	942	9030	12386	1875
	7823	6994	10615	1377	3165	1422	2346	944	7149	4721	9942	3253
	9534	8437	9109	6583	8269	5181	3727	2785	11616	10928	6013	3851
	6779	11345	3888	8115	12234	1593	11166	5064	9064	8068	2920	11723
436:	1292	3068										
	6347	3468	11338	11409	12270	6989	2546	5731	6603	9120	10134	11132
	8045	3411	9970	4217	8868	6022	11364	7706	8499	10764	2259	8466
	2660	11256	10381	4994	10726	7766	2412	6096	5641	505	7223	9020
437:	3178	1876	7265	3623	6409	508	507	1016				
	684	7280	11639	2549	7965	8231	10595	7331	6105	8144	9633	2093
	9958	4276	11512	2675	4465	7787	11641	10917				
	9852	9813	3420	3677	6942	3277	6017	791	7627	11435	3897	5927
438:	4207	7673	10919	8597	10213	7914	825	6981	4752	4018	4039	11441
	9737	9811	643	4090	4666	4546	6461	2864	1198	10505	1414	8510
	1332	9632	6508	9748	5207	7702	3747	12087	3357	9406	3417	4104
	3657	3772	11104	8237	8514	8436	2571	4116	3922	8122	6209	10639
	693	732	4062	7892	686	3094	3499	3000	2167	6655	1509	10401
	1427	1579	2802	9356	8013	6206	3904	7261	9433	934	510	6382
	8330	9157	10376	9699	832	1479	7796	2553	7440	3791	1738	5177
	7444	12266	3261	1236	5344	3157	5577	4289	9028	2374	9986	4510
	5313	12252	4434	9805	4625	2489	1554	2057	8415	7724	6950	3790
	10071	1888	10647	2936	9844	6590	642	5953	9569	11882	6358	2897
	2797	5667	3259	1008	2009	9475	11260	1252	8074	3306	4480	6785
	10892	7801	2478	12060	10181	10457	11313	11251	10961	5398	11091	1021
	8867	11189	2479	1526	2174	11424	6658	4950	11613	12337	2055	4096

(continuación)

SEC ID N°: SEC ID N° de homólogos

11784	5724	6115	11058	9979	6460	5035	6730	4923	6381	6683	3081
6021	11093	12172	6580	7672	6698						
439:	9050	1624	11490	9137	1472	11419	11201	12153	11407	2333	8918
	12149	10769	2801	9090	5211	11474	12365	5630	12100	6330	2526
	2036										
440:	5951	3216	9673	4696	9814	10953	5785	720	6518	1693	11588
	10246	7120	5040	10911	11834	11378	3196	5717	9753	5644	
441:	7707	8538	2341	7194	5074	2147	2538	9725	10428	4880	5920
	10970	6335	7744	8342	11672	6675	8117	1618	6922	6664	1708
	10501	3809	2321	1477	3404	5288	1911	4926			
442:	11879	6492	3887	756	4733	1728	5673	5481	11069	12381	1890
	1649	2930	2784	6431	1020	9576	3232	7334	2622	4189	8439
	3249	3593	4179	4841	5713	10718	6823	6695	3315	6663	
443:	2994	605	1631	6296	1844	3084	9395	1933	8702	7786	11988
	2128	10660	5251	6665	7785	9981	11142	4174	3452	3303	12156
	4698	12118	2699	12096	7773	2953	5956	12178	12170	5672	9916
	7788	4953	11739	4556	6260	3109	8488	8674	9574	8624	3734
	11566										
444:	11436	9600	4036	2771	1190	6982	2138	5753	5102	4767	7415
	9797	5570	7192	1387	4343	5680	10618	5872	3634	11291	10696
	1986	9618	10628	10894	1404	9827	6200	1273	9615	2105	6034
	10168	4940	1734	8417	8948	8808					
445:	5898	11158	5363	4614	479	4772	679	6014	3641	11608	11120
	8644	8810	9334	12142	6025	5777	923	11900	9914	580	1904
	3473	8157	9546	10735	1346	12408	5326	10987	4765	12292	2408
	3705	11060	920	10127	11506	6468	2264	2469	7344	5771	9604
	2225	2423	5614	6255	4052	5154	4753	2006	4144	913	1893
	11578	1641	10844	7418	4406	3664	7010	6263	9188	8333	11184
	3586	7119	4592	10897	1543	3967	10446	6161	8214	9019	8506
	8178	8166	2609	6272	11990	10720	4720	1372	8999	5687	1064
	2764	7876	2726	10484	8618	878	11391	5389	1532	4482	2194
	5970	2854	1329	5025	8114	540	8209	6786	1605	3796	9500
	6774	2846	6204	7569	9752	2248	2665	8972	12410	8446	3821

(continuación)															
SEC ID N°: SEC ID N° de homólogos															
	8648	9439	6312	733	11327	2605	8876	10319	7537	5908	4987	9013			
	3443	9602	12276	7661	1274	10200	5396	11003	10042	11749	8121	11076			
	9974	11026	1419	10891	1463	5977	2460	6881	10165	3756	2451	5549			
	1517	2237	9215	4893	6903	10551	603	8871	3933	7551	7660	6459			
	2448	10902	11799	12162	11708	5866	3938	11582	5019	9219	1223	2361			
	3750	10152	5770	8615	4412	7727	1552	5097	10590	6782	9346	10110			
	8347	1399	4798	8063	10203	7369	3212	3929	4222	2932	2814	2808			
	4003	6572	10580	7424	7144	10581	8029	614	12041	9422	11418	7355			
	4890	9654	3858	6591	526										
446:	2763	11630	10646	5423	8132	999	1338	3592	12392	1695	1880				
447:	5756	4298	9204	3118	7348	2187	6044	11528	3135	8988	3176	11446			
	4858	5386	6613												
449:	12062	3366	9305	2281	4123	4637	8367	769	2719	4653	1084	7458			
450:	12147	9257	3555	5006	5380	3990	699	7196	8444	1317	486	5669			
	9008	10806	1852	3245	1913										
451:	7961	6784	10385	12354	865	6268	12456	4879	11331	1843	3415	3457			
	8727	9428	4065	1063	1920	845	10276	6165	12385	11052	4847	4310			
	4673	2038	4649	9641	2122	7093	11894	3047	6855	561	8107	4273			
	7069	9794	9178	12356	1917	6681	10830	10176	11333	7035	11763	2291			
	9680	10796	6237	2745	8942	1107	5551	2354	8913	5062	2272	10205			
	6966	8747	11111	5876	5902	9949	12045								
452:	6394	10174	11264	2929	1796	12463	7434	9390	4194	2477	11245	3690			
	1838	5530	1929	9136	7237	989	11473	6317	11703	7760	2499	9922			
	7259	6310	2561	2364	10199	11466	796								
453:	6394	10174	11264	2929	1796	12463	9390	7434	4194	2477	11245	5530			
	-1838	1929	7237	989	7421	9348	1044	4048	10219	9509	8398	5286			
	5871	11487	980	7210	816	796									
454:	6625	1795	11957	10600	4695	8786	1854	826	8093	5089	8783	5261			
	542	6979	12146	11354	11208	4567	3736	3070	3227	2154	7613	9181			
	2375	7852	10957	10358	4616	8853	2165								
455:	11314	10125	5372	1221	9486	8375	5654	7809	1768	3229	4762	10599			
	4701														
456:	8762	11259	9107	10327	1525	10723	11286	8082	8795	7526	1751	9617			

(continuación)

SEC ID N°		SEC ID N° de homólogos																	
457.	6173	10210	8996	5165	9994	10981	2651	8924	5646	10734	1043	6503							
	7160	674	10942	6208	2500	2232	5435	8003	7775	7197	11386	9614							
	7336	4389	1201																
458.	6933	2534	5034	10920	4668	801	7463	9241	4122	10093	8480	1669							
	4875																		
459.	12340	917	2331	6174	4354	1998	5058	11006	9105	6744	12417	3551							
	10011	2512	3369																
460.	1750	2582	939	7800	4167	10863	1778	3187	3119	8688	9519	7715							
	3465	8518	7218	3654	9851	3214	9839	8754	11131	3785	10516	5456							
	1066	9161	2498	7968	4449	8957	11214	11622	11993	12161									
461.	3393	11215	6311	8704	11428	12454	7996	9854	1062	3012	10737	12145							
	4242																		
462.	1596	11261	12367	6847	9799	1697	3584	4419											
	2559	3211	8719	9526	912	8678	9169	529	7339										
	8985	11453	9101	1592	996	9514	8633	664	10466	11427	8230	2310							
463.	3910	4193	2788	12130	1565	10560	8540	6384	11084	4965	9345	1623							
	3579	12441	9119	1042	3490	8581	6214	7907											
464.	5490	9114	10657	1047	9324	2641	3532												
	5468	6657	4173	4351	1080	4899	8973	2817	10047	7847	1370	2389							
465.	11692	10139	7089	6369	5848	9153	2447	6533	10312	3428	12166	7229							
	12336	1718	4369	11599	3520	1903	12300	1482											
466.	1224	5723	2541	11729	5963	4598	5738	2220	8201	5996	11234	5067							
	943	2089	10322																
467.	11200	7567	3580	4845	2181	10852	549	2202	11686	1089	7836	9898							
	1118	4587	4761	11028	7798	9104	8548	7649	5889	1358	3846	12287							
	10700	8601	5442	2137	10267	7042	2634	760	1406	9108	5922	3789							
468.	6004	4198	10766	2454	3807	12306	12290	11237	9088	7917	9288	7212							
	11361	1586	3575	1993	5292	10350	12258	2782	5845	8104	4936	9246							
	10103	7474	1873	6809	9171	12400	6038	9410	2560	5403	2736	8012							
469.	1197	1859	4317	1762	11062	1788	1589	8632	12112	7865	2796	10617							
	1478	3978	7405	8958	12158	4314	1096	3383	6169										
	6501	9978	9506	8048	6041	11554	7940	1311	761	9444	1675	9956							
470.	8980	3509	8369	7051	10464	4793	9243	11137	9702	650	2162	2318							

(continuación)

SEC ID N°: SEC ID N° de homólogos													
470:	8547	5167	2224	3189	11426	11921	12073	5571	10065	11294	1231	1534	
	12094	1787	5994	2871	3170	9945	1211	6776	5232	9755	3346	4529	
	7769	10952	2907	4108	1825	8189	9705	2337	5815	6517	2024	9712	
	7508	10391	12009	7433	2870	5210	5086	1723	1765				
	5084	11194	9575	8315	3179	1987	11812	3976	3760	2762	779	4164	
	11691	10789	12264	5656	10659	2104	11167	8323	4400	10935	5221	5623	
	921	3463	10656	10670	4215	5379	2522	6418	982	7059	3322	7858	
	9733	8620	6578	6976	10694	5052	2725	5937	3180	5594	11700	8684	
	4226	10509	12384	11783	11615	3194	8836	3058	4838	1075	589	6318	
	12032	4746	6787	9636	2112	12444	5488	10076	9098	4011	2926	4776	
471:	8892	12036	1627	1229	7868	12227	4806	3425	3106	5517	5569	2805	
	6222	1072	3265	7386	6709	4420	8943	8561	11384	4492	6943	7513	
	5489	11412	5620	935	4602	3992	12126	4524	5295				
	4125	2643	8914	5741	7486	11181	7454	1438	9051	5051	7954	6066	
	1495	10258	12409	2931	2998	7574	8519	10264	7534	797	3773	10985	
	4080	10803	2516	7845	10965	4601	5002	7211	11852	3999	6602	11085	
	5772	3149	11134	10624	1896	11243	5259	3993	4281	1326	4033	3299	
	1465	9045											
	473:	1243	1128	2040	10378	8222	10746	10012	7467	5079	1528	11934	8515
	474:	6601	527	2379	10196	6137	8682	4571	5965	1720	11962	7324	6890
	2000	3989	9528	2837	979	1830	4658	5140	12206	7572	11257	3730	
	3247	9845	5430	6818	11818	9582	1443	9531	2032	12196	8459	12235	
	1905	7764	7158	3049	7860	6184	10022	5125	11754	776	11248	1635	
	11123	3134	3576	12200	1437	2294	10118	5180	4802	2992	6519	5231	
	2482	11465	7884	2815	6520	12103	10061	758	8634	12134	2903	10025	
	5634	5303	4014	11481	2853	4147	5919	1025	8579	11370	10373	9451	
	7816	8473	6909	2056	1942	5495	9556	941	11202	3129	11586	7180	
	4318	8652	1094	12057	8148	3547	1039	1685	7743	3838	11056	11872	
	3487	6540	4865	2136	12002	1735	7894	5527	9635	6171	3419	11976	
	11116	4202	2787	3857	11185	8493	7897	963	12132	5397	11537	4725	
	9882	10003	7886	11920	8820	1566	8009	6859	5036	1810	6339	5982	
	10204	6829	5887	11503	1164	4505	10947	7478	11732	2729	11967	6906	
	1181	12106	7401	8306	4315	3213	2969	11177	10260	11850	5333	4769	

(continuación)														
SEC ID N°: SEC ID N° de homólogos														
3231	10237	11065	11935	2196	9700	8932	1776	4348	10232	2954	9540			
9284	6427	11488	1448	5878	4288	11911	1606	5899	2216	4930	828			
8456	8300	12173	1581	3969	3308	3733	8146	4107	318	318	10810			
10688	7258	3755	6413	3072	2938	1958	2013	3222	7116	9552	6743			
3633	5410	10967	9652	3051	4884	6438	2195	3521	715	11816	5080			
6811	11824	6148	7701	2120	2012	10779	7038	2714	1004	8131	3368			
8676	2320	7910	10733	11153	5976	2606	1254	10261	10527	6399	7022			
2373	12098	10524	11061	2677	2819	8155	8898	4897	3568	2061	2343			
4454	5367	5900	8137	9016	5191	9012	754	8169	1230	4040	9541			
8193	5427	7697	3237	10536	3816	7388	5399	11230	4472	3241	2168			
4442	3086	3186	1691	2369	9347	4435	6197							
475:	2644													
476:	12084	6235	4759	10347	8520	3926	7491	1621		4309	10760			
477:	12177	6814	4681	6355	5964	1174	7480	2252	11814	2160				
	10292	8167	9787	1400	10173	5931	4566	772	6147	5362				
478:	8803	12320	5017	819	1756	7073	10263	8731	3488	2434	11042			
	2673	2990	11910	11377	1682	12429	12056	4814	742	12165	7948			
	11221	10036	10314	10977	4596	1323	10078	7929	3624	3114	10477			
	3389	8708	5663	6480	3774	3454	9482	11666	5598	9709	5580			
	4619	5929	3207	12379	6931	5030	938	7247	12101	4907	11965			
	10984	6905	6496	673	2777	5113	1378	10218	1124	12160	10249			
	6752	4932	11395	11015	5999	10641	6043	1035	12446	9645	10931			
	3873	12330	5943	5657	6916	7389	2698	3762	12075	12250	5548			
	6053	6457	11456	1634	12220	4794	8173	4037	926	7361	2588			
	7618	11802	10825	10443	7699	1560	11556	1176	7303	9298	2851			
	9247	11674	2279	8498	4791	8531	6303	1977	9577	5776	8512			
	10792	7667	9612	3405	4341	7959	10860	3622	8313	7205	4064			
	9631	9594	968	10331	7018									

REIVINDICACIONES

1. Una semilla transgénica para un cultivo, en la que el genoma de dicha semilla transgénica comprende ADN recombinante que mejora rasgos de un gen para una proteína que tiene una secuencia de aminoácidos con al menos el 90% de identidad con SEC ID N°: 408.
- 5 2. La semilla transgénica según la reivindicación 1, en la que dicha proteína tiene la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 408.
3. La semilla transgénica según la reivindicación 1, en la que dicho ADN recombinante se usa para producir dicha proteína.
4. La semilla transgénica según la reivindicación 1, en la que
- 10 (a) dicha proteína tiene la función de una proteína específica que se ha demostrado en una planta modelo con eficacia para un rasgo mejorado en comparación con una planta sin dicho ADN recombinante en la que dicho rasgo es tolerancia al estrés por sequía; y
(b) plantas transgénicas cultivadas a partir de dicha semilla transgénica presentan tolerancia al estrés por sequía.
- 15 5. La semilla transgénica según la reivindicación 1, en la que
- (a) dicho cultivo es susceptible a un entorno de estrés por sequía; y
(b) plantas transgénicas cultivadas a partir de dicha semilla transgénica prosperan en dicho entorno de estrés por sequía.
- 20 6. La semilla transgénica según la reivindicación 1, en la que plantas transgénicas cultivadas a partir de dicha semilla presentan tolerancia al estrés por sequía en comparación con plantas similares sin el ADN recombinante cuando dichas plantas se cultivan en un entorno de estrés por sequía y dicha proteína tiene la función de la proteína con una secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 408.
7. Una construcción de ADN recombinante que comprende un promotor funcional en una célula de planta operativamente ligado un ADN recombinante que mejora rasgos de un gen para una proteína que tiene una secuencia de aminoácidos con al menos el 90% de identidad con SEC ID N°: 408.
- 25 8. La construcción de ADN recombinante según la reivindicación 7, en la que dicha proteína tiene la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 408.
9. La construcción de ADN recombinante según la reivindicación 7, en la que dicho ADN recombinante se usa para producir dicha proteína.
- 30 10. Una planta de cultivo transgénico o progenie de la misma que comprende en su genoma la construcción de ADN recombinante que mejora rasgos como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9.
11. Un procedimiento para preparar una planta de cultivo transgénico que comprende introducir la construcción de ADN recombinante de una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9 en el genoma de una línea de planta diana.