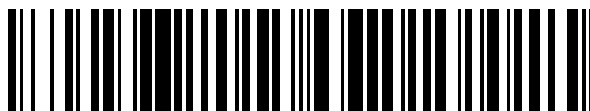


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 558 929**

51 Int. Cl.:

**A01N 37/42** (2006.01)

**A01P 21/00** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.06.2008** **E 08768691 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.01.2016** **EP 2171041**

54 Título: **Extensión del periodo de polinización**

30 Prioridad:

**20.06.2007 US 936497 P**

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

**09.02.2016**

73 Titular/es:

**VALENT BIOSCIENCES CORPORATION (100.0%)  
870 TECHNOLOGY WAY  
LIBERTYVILLE ILLINOIS 60048, US**

72 Inventor/es:

**WILSON, DALE O., JR.;  
HIGGS, NICOLE;  
FUGIEL, JUDITH;  
PETRACEK, PETER D. y  
WARRIOR, PREM**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

ES 2 558 929 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**

Extensión del periodo de polinización

**Campo de la invención**

- 5 La presente invención se dirige a mejorar la sincronización de la floración de variedades endogámicas en la producción de semillas híbridas mediante el retraso en la germinación y el crecimiento de la semilla tratada, de modo que la variedad progenitora tratada florece más tarde y al mismo tiempo que la otra variedad progenitora de floración más tardía.

**Antecedentes de la invención**

- 10 El sistema de producción de semillas híbridas requiere la plantación de dos variedades o líneas progenitoras y la polinización cruzada controlada de estos progenitores en el campo de la producción de semillas. A menudo es necesario plantar los dos progenitores en fechas diferentes, o realizar múltiples plantaciones del progenitor del polen para lograr un polen adecuado durante la floración (Wych, 1988, en: Corn and Corn Improvement, 3ª edición, 1988). La necesidad de múltiples fechas de plantación y la posibilidad de un retraso en las plantaciones siguientes debido a una climatología desfavorable aumenta el riesgo y el coste de la producción de semillas híbridas.

- 15 Además de la plantación dividida, las soluciones tradicionales a este problema incluyen cortar y/o quemar una porción de las plantas progenitoras que deben retrasarse, para impedir el crecimiento y retrasar a las plántulas. Estas operaciones de corte y quemado y el transporte por carretera del equipo constituyen una de las operaciones más peligrosas en la producción de semillas de maíz híbridas.

- 20 Otra solución es revestir la semilla del progenitor que se va a retrasar con un polímero que limite la captación de agua ("Pollinator Plus" de Landec). Pollinator Plus es difícil de aplicar e interacciona de modo impredecible con el contenido en agua del suelo. Además, la aplicación de Pollinator Plus no resulta práctica con semillas más pequeñas que el maíz, tales como el sorgo y el arroz. Así, es necesario proporcionar un método más eficaz y cómodo para retrasar la floración de progenitores endogámicos para la producción de semillas híbridas.

- 25 El ácido S-(+)-abscísico (ABA) es una hormona vegetal que se encuentra en todos los organismos fotosintéticos (Cutler y Krochko, 1999; Finkelstein y Rock, 2002). El ABA está implicado en muchos acontecimientos importantes del crecimiento y desarrollo de las plantas, que incluyen la latencia, la germinación, la brotación floral, la floración, el cuajamiento del fruto, el crecimiento y desarrollo general, la tolerancia al estrés, la maduración, la abscisión y la senescencia.

- 30 De Fossard (Botanical Gazette (Chicago) (1973), 134(2), 103-117) describe los efectos de CCC, etrel, ácido abscísico, aldehído abscísico, e hidrocarburos abscísicos sobre el desarrollo y la floración de *Chenopodium rubrum*.

Sluchevskaya (Doklady Akademii Nauk SSSR (1978), 243(1), 268-271 [Plant Physiol.]) describe la regulación del crecimiento y la floración de variedades altas y enanas de guisante mediante un tratamiento de las semillas antes de la siembra con ácido abscísico.

- 35 El documento US 2006/0179518 A1 describe proteínas que tienen sitios de unión para el ácido abscísico (ABA) y métodos para su uso.

El documento US 5173106 describe una composición para inhibir la floración de plantas y una composición para prolongar la duración de la floración. Las composiciones comprenden ácido S-(+)-abscísico como ingrediente eficaz.

Sin embargo, el uso de ABA para retrasar el desprendimiento del polen no se considerado ni evaluado previamente.

**Sumario de la invención**

- 40 La presente invención se dirige a un método para retrasar la floración de plantas de maíz y canola utilizadas como progenitores en la producción de semillas híbridas, según se define en la siguiente reivindicación 1.

**Descripción detallada de la invención**

- 45 La presente invención se dirige a la inhibición del crecimiento y el retraso en la emergencia de la tierra de plantas utilizadas como progenitores en la producción de semillas híbridas. El tratamiento comprende aplicar cantidades eficaces, pero no fitotóxicas, del ácido S-abscísico (ABA; S-ABA; CAS n.º 21293-29-8) y/o análogos de ABA. El tratamiento también puede comprender aplicar cantidades eficaces, pero no fitotóxicas, de ABA y/o análogos de ABA en combinación con revestimientos poliméricos de semillas.

La presente invención se dirige a la mejora en el rendimiento de semillas híbridas y la pureza genética en campos de producción de semillas.

- 50 La presente invención se dirige al uso en cultivos para la producción de semillas híbridas de maíz forrajero, maíz

dulce y canola.

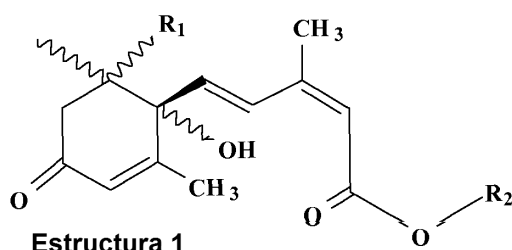
El compuesto natural se ha indicado como (S) o (+), su sustancia sintética o racémica como (RS) o (+/-), y su enantiómero como (-). Puede utilizarse el ABA, en su forma natural (+), sus formas sintéticas o racémicas, enantiómeros, mezclas de formas y derivados, según la presente invención.

- 5 Los análogos de ABA son PBI-429, PBI-702 y PBI-488.

Los análogos del ácido abscísico están representados por las estructuras 1, 2 y 3, en las que, para la estructura 1:

la estereoquímica del grupo hidroxilo alcoholico es S-, R- o una mezcla R,S,

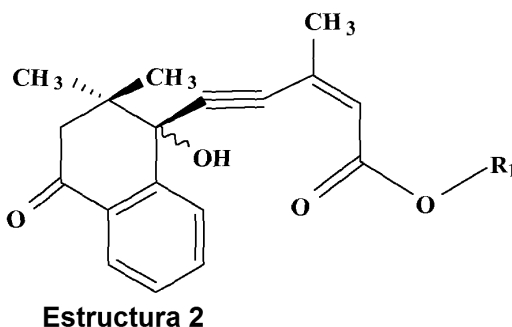
la estereoquímica del grupo R<sub>1</sub> está en relación cis con el grupo hidroxilo alcoholico.



- 10 El compuesto de estructura 1 es PBI-429, en el que R<sub>1</sub> es etinilo, y R<sub>2</sub> es un grupo metilo.

Para la estructura 2:

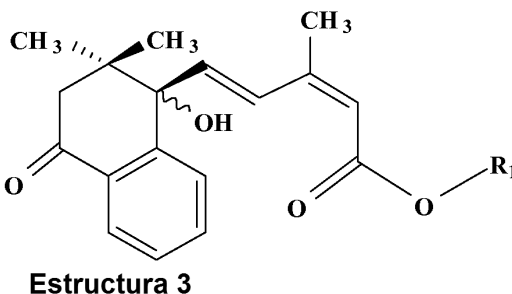
la estereoquímica del grupo hidroxilo alcoholico es S-, R- o una mezcla R,S.



El compuesto de estructura 2 es PBI-702, en el que R<sub>1</sub> es un grupo metilo.

- 15 Para la estructura 3:

la estereoquímica del grupo hidroxilo alcoholico es S-, R- o una mezcla R,S.



El compuesto de estructura 3 es PBI-488, en el que R<sub>1</sub> es un grupo metilo.

También se contempla que puedan utilizarse las sales de ABA según la presente invención.

- 20 Dependiendo de la especie y de la cantidad de retraso necesaria, la cantidad de ABA aplicado a las semillas puede variar dentro de amplios intervalos, y en general se encuentra en el intervalo de aproximadamente 5 gramos a 200 gramos por 45,4 kg (100 libras) de semillas. Las aplicaciones realizadas a las plántulas pueden variar de 100 a 10.000 ppm, dependiendo del volumen de aplicación y de la cantidad de retraso en la floración necesaria.

5 Las técnicas de aplicación de tratamientos a semillas son muy conocidas por los expertos en la técnica, y pueden utilizarse con facilidad en el contexto de la presente invención. Las composiciones de la presente invención pueden aplicarse como una suspensión o una inmersión. También puede utilizarse un revestimiento con película y la encapsulación. Los procesos de revestimiento son muy conocidos en la técnica y emplean las técnicas de revestimiento con película, encapsulación, inmersión, etc. Los métodos de aplicación de las composiciones de la presente invención pueden variar, y se pretende que la invención incluya cualquier técnica que vayan a utilizar los expertos en la técnica.

En una realización, la invención se refiere a un método para retrasar la floración de una planta, que comprende aplicar una cantidad eficaz del ácido S-(+)-abscísico, o uno de sus análogos, a una semilla de dicha planta.

10 Los análogos son PBI-429, PBI-702 y PBI-488.

Dicha cantidad eficaz es de  $0,5 \pm 10\%$  gramos a  $200 \pm 10\%$  gramos por 45,4 kg (100 libras) de semillas.

Los métodos de la presente invención producen un aumento en el tiempo térmico (suma térmica o ST) de una planta.

15 En una realización preferida, los métodos de la presente invención producen un retraso en la emergencia de las semillas de la tierra.

Tal como se emplea en la presente, todos los valores numéricos relacionados con cantidades, porcentajes en peso y similares, se definen como "aproximadamente" cada valor concreto, más o menos 10%. Por ejemplo, la expresión "al menos 5,0% en peso" significa "al menos 4,5% al 5,5% en peso". Por tanto, el alcance de las reivindicaciones incluye unas cantidades dentro del 10% de los valores reivindicados.

20 A lo largo de la solicitud, las formas en singular "un/una" y "el/la" incluyen la referencia al plural, a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

Los siguientes ejemplos pretenden ilustrar la presente invención y enseñar a los expertos en la técnica cómo preparar y utilizar la invención.

### Ejemplos

25 Ejemplo 1: Efecto de ABA y análogos y derivados de ABA sobre la germinación del maíz dulce

#### Método

30 El ácido ABA y tres análogos fueron disueltos en etanol para producir las dosis deseadas. La tabla 1 muestra los agentes y las dosis. Se añaden partes alícuotas (250  $\mu$ l) de disoluciones en etanol de los agentes a muestras de 10 g de las semillas, y las semillas se agitaron y se secaron durante la noche. Los ensayos de germinación se realizaron en papel secante húmedo a 15°C en placas Petri. Se realizaron cuatro réplicas de 10 semillas cada una.

35 Se contó la prominencia del coleoptilo y las radículas aproximadamente a diario durante 27 días. La prominencia máxima de las radículas (RGERM) y la prominencia máxima del coleoptilo (CGERM) se expresan como porcentajes de cada placa. Los recuentos diarios se expresan como proporciones de los máximos de prominencia de cada placa, y se ajustaron curvas de Gompertz a los datos de prominencia utilizando SAS Proc NLIN. A partir de los parámetros de los modelos se calculó la mediana del tiempo hasta la prominencia de las radículas (RT50) y la mediana del tiempo hasta la prominencia del coleoptilo (CT50) para cada placa. Se realizaron análisis de la varianza y se calcularon los promedios para cada una de las cuatro respuestas (RGERM, CGERM, RT50 y CT50).

#### Resultados

Tabla 1. Efecto de ABA y el análogo de ABA (PBI-429, PBI-488 y PBI-702) aplicados a semillas de maíz dulce (cv. Silver Queen) sobre la germinación en papel secante a 15°C (dosis de 1 ppm igual a 1 microgramo por 1 gramo de semillas)					
		Prominencia de las radículas		Prominencia del coleoptilo	
Agente	Dosis (ppm)	RGERM (%)	RT50 (días)	CGERM (%)	CT50 (días)
Blanco	0	87,5	5,43	85,0	8,30
ABA	10	87,5	5,99	80,0	9,70
ABA	100	77,5	7,28	65,0	12,80
ABA	1000	85,0	8,58	22,5	18,44

Tabla 1. Efecto de ABA y el análogo de ABA (PBI-429, PBI-488 y PBI-702) aplicados a semillas de maíz dulce (cv. Silver Queen) sobre la germinación en papel secante a 15°C (dosis de 1 ppm igual a 1 microgramo por 1 gramo de semillas)					
		Prominencia de las radículas		Prominencia del coleoptilo	
PBI-429	10	70,0	5,60	67,5	10,37
PBI-429	100	87,5	5,67	75,0	11,18
PBI-429	1000	82,5	6,94	57,5	14,67
PBI-488	10	97,5	5,19	95,0	9,04
PBI-488	100	90,0	6,39	77,5	12,27
PBI-702	10	75,0	5,89	75,0	9,70
PBI-702	100	95,0	6,63	82,5	10,23

La tabla 1 muestra los porcentajes máximos de prominencia en el día 27, y la mediana del número de días hasta la prominencia entre las plántulas que mostraron prominencia del órgano. Los datos están censurados por la derecha, y los bajos porcentajes de prominencia a altas dosis no pueden ser considerados como prueba de mortalidad.

- 5 Cada agente mostró un retraso creciente en la mediana del tiempo hasta la prominencia (T50) de las radículas y, en especial, del coleoptilo. El grado de retraso del coleoptilo sugiere que estos tratamientos pueden utilizarse para retrasar la emergencia del maíz.

Ejemplo 2: Efecto de diferentes formas de ABA sobre el retraso en la emergencia de la tierra de semillas de maíz

#### Antecedentes

- 10 El tratamiento comercial de semillas se realiza pulverizando un pequeño volumen de una suspensión acuosa sobre las semillas justo antes del embolsado. Los nuevos ingredientes deben ser compatibles con este sistema. La suspensión generalmente incluye un fungicida, un polímero formador de película y un colorante. El proceso se simula en el laboratorio preparando muestras pequeñas de la suspensión y pulverizándolas sobre las semillas en una máquina de revestimiento de semillas a escala de laboratorio. El objetivo del experimento descrito en el ejemplo 2 fue evaluar el efecto de diferentes formas del ácido abscísico sobre el retraso en la germinación de semillas de
- 15 maíz híbrido cuando se aplican de una manera que imita a la práctica comercial.

#### Método

- 20 Se evaluaron tres formas de ABA en este experimento: 1) el ácido libre, 2) la sal de amonio, y 3) la sal de sodio. El catión se denomina en lo sucesivo "contraión". El experimento se construyó como un experimento factorial de dosis de ABA x contraión, con dos niveles de ABA (0,25 g/cwt) y tres contraiones (H<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>) para un total de seis tratamientos. Los tratamientos se constituyeron en 3 ml de muestras de la suspensión para el tratamiento de semillas acuosa experimental. Todas las muestras de la suspensión para el tratamiento de semillas contenían el agente formador de película CF-Clear y Colorcoat Red (Becker Underwood), cada uno a 28,35 g/cwt (1 oz/cwt), y 4,73 g/cwt (0,167 oz/cwt) del fungicida Maxim XL (Syngenta). El volumen de aplicación de la suspensión fue de 567 g/cwt (20 oz/cwt) (cwt = 45,4 kg (100 libras) de semillas).

- 25 Se trataron muestras de 100 gramos de semillas de maíz híbrido Hughes 1883 con las suspensiones experimentales utilizando un aparato de tratamiento de semillas Hege 11 con un cuenco de 15,24 cm (6 pulgadas).

- 30 Las semillas se plantaron en bandejas de plástico que contenían 1 kg de suelo franco limoso agrícola típico. Se plantaron 50 semillas a una profundidad de 3 cm en cada bandeja de plástico, y la tierra en la bandeja se ajustó hasta 21% de humedad del suelo (en base al peso húmedo). Se incubaron dos réplicas del experimento bajo luz constante en una cámara a 25°C y se incubaron dos réplicas bajo luz constante en una cámara a 18°C. Las bandejas se regaron a diario hasta el peso correcto y se comprobaron para determinar la emergencia. Los recuentos diarios de las plántulas continuaron hasta que cesó la emergencia. El recuento final de plántulas emergidas se expresa como porcentaje de las 50 semillas plantadas (GERM).

- 35 Los recuentos diarios se convirtieron en proporciones de la germinación final de la bandeja, y se ajustó una curva de Gompertz a los datos de cada bandeja utilizando SAS Proc NLIN. A partir de los parámetros del modelo se calculó la mediana del tiempo de germinación (T50) y el intervalo cuartil (QR) para cada bandeja. Se realizó un análisis de la varianza y se calcularon los promedios para cada una de las tres respuestas (GERM, T50, QR).

## Resultados

Tabla 2. Germinación en la tierra a 18°C y 25°C después del tratamiento de las semillas con diferentes formas de ABA a diferentes dosis				
Dosis de ABA (g/cwt)*	Contraíón	Emergencia final (%)	T50 (días)	QR (días)
Germinación en la tierra a 18°C				
0	ninguno	97	5,4	0,82
0	amonio	93	5,5	1,13
0	sodio	95	5,3	0,74
25	ninguno	97	11,4	2,96
25	amonio	91	11,2	3,52
25	sodio	92	10,9	3,36
Germinación en la tierra a 25°C				
0	ninguno	89	3,0	0,26
0	amonio	94	3,0	0,46
0	sodio	92	2,9	0,39
25	ninguno	96	7,7	1,32
25	amonio	91	7,4	1,34
25	sodio	92	7,1	1,31
* Como el ácido libre.				

El ABA aumentó la mediana del tiempo hasta la germinación ( $p < 0,0001$ ) y el intervalo cuartil ( $p < 0,0002$ ), independientemente del contraíón a 18°C y 25°C (tabla 2). El contraíón no produce ningún efecto sobre las respuestas ( $p > 0,2$ ), y las interacciones de ABA/contraíón no fueron significativas ( $p > 0,05$ ).

- 5 La germinación de la semilla control a 18°C, en lugar de a 25°C, aumentó la mediana del tiempo hasta la germinación en 80%. De modo sorprendente, el retraso producido por el tratamiento de las semillas con ABA también fue regulado por la temperatura. Los tratamientos con ABA produjeron 5,8 días de retraso a 18°C, y 4,4 días de retraso a 25°C. Expresado como una fracción del tiempo de germinación del control a la misma temperatura, el ABA produce un retraso constante, que dobla aproximadamente el tiempo hasta la emergencia.
- 10 En conclusión, el tratamiento de semillas de maíz con ABA produce un retraso en la emergencia constante y predecible en los ensayos de tierra en laboratorio. No importa si el ABA se presenta en forma de ácido libre o en forma de sal de sodio o de amonio. El retraso producido fue mayor a temperatura menor, un efecto que refleja la respuesta natural a la temperatura del maíz. Esta reacción proporcional a la temperatura es crucial para la utilidad como agente de retraso en la producción de semillas de maíz híbridas. Todas las formas de ABA fueron compatibles con la suspensión de tratamiento de semillas representativa.
- 15

Ejemplo 3: Respuesta a la dosis del tratamiento de semillas con ABA en tiempo térmico

## Antecedentes

- Debido a que la fenología y la germinación del maíz están dirigidas por el calor, la industria de las semillas de maíz emplea el tiempo térmico (suma térmica o ST), en lugar del tiempo del calendario, para medir y predecir la floración.
- 20 La fórmula convencional para calcular la contribución del ST a partir de un calendario de días para el maíz es:

$$ST = \frac{(\text{Temp max}) - (\text{Temp min})}{2} - 50$$

en la que "Temp max" es la temperatura máxima del día o 86, cualquiera que sea menor, y "Temp min" es la temperatura mínima del día en °F o 50, cualquiera que sea mayor.

- 25 En las cámaras de cultivo a temperatura constante, este cálculo es intrascendente. Por ejemplo, en la cámara nominalmente a 25°C de los inventores, la temperatura de la tierra realmente estaba a aproximadamente 26,1°C (79

°F) debido a la contribución térmica de la luz. Este tiempo se corresponde con 29 ST. Es importante estudiar el comportamiento de ABA en términos de la ST para demostrar la utilidad para la industria de las semillas. El objetivo de este experimento fue evaluar la respuesta a la dosis de la emergencia de semillas de maíz después del tratamiento de las semillas con ABA en términos de tiempo térmico.

## 5 Método

El ABA se aplicó a 0, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20 y 25 g/cwt como el ácido libre en suspensiones de tratamiento de semillas experimentales según se describió en el ejemplo 1. El lote de semillas se denominó "Hughes High" y es un híbrido comercial.

- 10 Las semillas se plantaron en tierra en bandejas de plástico según se describió en el ejemplo 2, y se incubaron a 25°C y 18°C según se describió en el ejemplo 2. La emergencia se contó cada 1-2 días y los datos se redujeron como se describió en el ejemplo 2. La contribución de unidades de calor diarias se calculó para las dos cámaras, y las respuestas se estudiaron en tiempo térmico acumulado, así como en tiempo del calendario.

## Resultados

Tabla 3. Emergencia de la tierra del maíz después de un tratamiento con el ácido libre de ABA a diferentes dosis						
Dosis de ABA (g/cwt)	Respuestas de los ensayos con tierra a 18°C			Respuestas de los ensayos con tierra a 25°C		
	Emergencia (%)	Retraso (días)	Retraso (ST)	Emergencia (%)	Retraso (días)	Retraso (ST)
0	93,0	8,1	0	91,2	0	0
1	94,2	-0,3	-4	97,1	0,4	10
2	91,2	-0,4	-6	95,5	0,6	17
3	94,0	-0,1	10	92,1	1,0	30
4	89,2	2,4	39	96,3	1,0	30
5	92,0	3,2	53	95,0	1,5	44
10	94,0	4,9	80	89,0	2,4	72
15	92,1	5,2	85	96,3	2,9	90
20	90,1	5,7	93	95,0	3,4	105
25	88,1	7,3	119	97,1	3,9	119

- 15 Tal como se muestra en la tabla 3, el ABA retrasó la emergencia progresivamente a medida que aumentaba la dosis. El retraso expresado en días fue mucho mayor 18°C que a 25°C. Cuando el retraso se expresa en tiempo térmico (ST), los retrasos producidos a 18°C y 25°C fueron casi los mismos.

- 20 En conclusión, el tratamiento de semillas con ABA retrasa progresivamente la emergencia de las plántulas de maíz a medida que aumenta la dosis. El retraso en el tiempo del calendario fue mayor a temperatura menor. Pero cuando el retraso se expresa en tiempo térmico, como suma térmica (ST), la respuesta a la dosis a 25°C y 18°C fue casi idéntica. Esto demuestra la utilidad del tratamiento de semillas con ABA para ajustar el cronometraje de la emergencia de la semillas en campos de producción de semillas de maíz, porque la industria de las semillas utiliza la ST del maíz para predecir la fecha de floración y gestionar la logística de la producción.

Ejemplo de referencia 4: Efecto del tratamiento de semillas con ABA sobre la emergencia de sorgo endogámico

## Método

- 25 Se obtuvieron semillas de cuatro líneas de sorgo endogámico comerciales de un suministrador de productos genéticos. Estas líneas endogámicas son representativas de muchos progenitores masculinos utilizados en la producción de semillas de sorgo híbridas. El ABA en forma del ácido libre se aplicó a las proporciones de 0, 10, 25, 50 y 100 g/cwt. La aplicación se realizó como se describió en el anterior ejemplo 2, excepto que el Maxim XL (Syngenta) se aplicó a 9,47 g/cwt (0,334 oz/cwt), Allegiance FL (Bayer) se aplicó a 21,26 g/cwt (0,75 oz/cwt), y Thiram 42-S (Bayer) se aplicó a 99,23 g/cwt (3,5 oz/cwt), utilizando una proporción de suspensión de 708,75 g/cwt (25 oz/cwt).

Las semillas se plantaron en tierra en bandejas de plástico como se describió en el ejemplo 2, excepto que se

plantaron a una profundidad de 2 cm, y se incubaron a 20/30°C (AOSA Rules for Testing Seeds, 2005). La emergencia se contó cada 1-3 días, y los datos se redujeron como se describió en el ejemplo 2.

#### Resultados

Sorgo endogámico	Dosis de ABA (g/cwt)	Emergencia (%)	Mediana del tiempo hasta la emergencia (días)	Intervalo cuartil (días)
43	0	96,0	2,3	0,5
43	10	94,0	5,1	1,5
43	25	94,2	6,3	2,2
43	50	87,2	8,6	3,7
43	100	87,9	11,3	4,8
44	0	92,1	2,7	0,8
44	10	79,0	5,7	2,6
44	25	73,2	8,4	3,2
44	50	71,3	10,7	4,6
44	100	49,0	14,4	4,7
45	0	97,1	2,8	0,8
45	10	81,3	5,4	1,5
45	25	77,1	7,3	3,1
45	50	54,1	10,6	3,5
45	100	25,0	14,9	6,7
46	0	90,4	2,5	0,6
46	10	89,2	5,7	2,6
46	25	86,1	7,0	3,0
46	50	86,2	8,8	3,9
46	100	75,1	11,4	5,0

- 5 Tal como se muestra en la tabla 4, el ABA retrasa progresiva y significativamente la emergencia del sorgo endogámico a medida que se aumenta la dosis.

Ejemplo 5: Retraso en la emergencia y la antesis en plantaciones en el campo de semillas de maíz endogámico tratadas con ABA

#### Método

- 10 Se obtuvieron semillas de las líneas endogámicas B91 y B95 en Iowa State University. Estas líneas endogámicas proceden del grupo heterótico BSCB1, y son representativas de muchos progenitores masculinos empleados en la producción de semillas de maíz híbridas. El ABA en forma de la sal de amonio se aplicó a unas tasas de 0, 25, 50 y 100 g/cwt (como el ácido libre). La aplicación se realizó como se describió en el anterior ejemplo 2, excepto que CF-Clear y Color Coat Red (Becker Underwood) se aplicaron a 14,18 g/cwt (0,5 oz/cwt), y Maxim XL (Syngenta) se aplicó a 9,47 g/cwt (0,334 oz/cwt), utilizando una proporción de suspensión de 425,25 g/cwt (15 oz/cwt).
- 15 Las muestras de semillas se plantaron de modo mecánico en pequeñas parcelas de 0,00081 hectáreas (0,002 acres) cada una, en Woodstock, IL, Stoughton, WI, y Winnebago, IL. En cada sitio se plantaron tres parcelas de cada tratamiento. Se emplearon las prácticas de cultivo convencionales para la producción de maíz. Las parcelas se estudiaron a diario, y se contó la emergencia de las plántulas en cada parcela cada día o cada dos días durante el mes después de plantar. Los datos se analizaron como se describió en el anterior ejemplo 2.



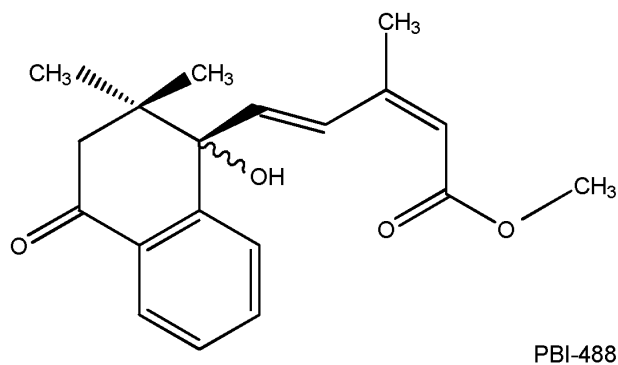
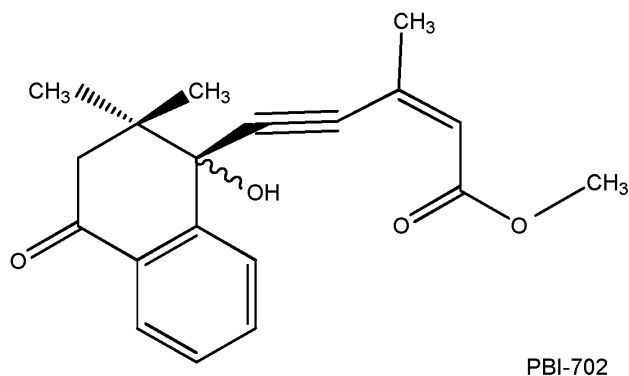
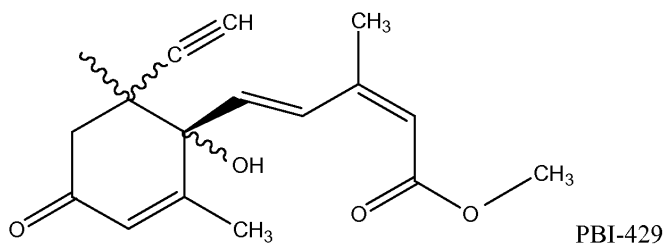
## Resultados

Tabla 5. Retraso en la emergencia de la tierra y el desprendimiento del polen tras plantar maíz endogámico después del tratamiento de las semillas con ABA					
Sitio	Maíz endogámico	Dosis de ABA (g/cwt)	Emergencia final (%)	Mediana del tiempo hasta la emergencia (días)	Mediana del tiempo hasta la antesis (días)
Woodstock	B91	0	97,2	10,3	
Woodstock	B91	25	99,0	11,4	
Woodstock	B91	50	94,5	13,7	
Woodstock	B91	100	92,0	14,3	
Woodstock	B95	0	98,3	11,2	
Woodstock	B95	25	94,8	13,8	
Woodstock	B95	50	96,8	15,3	
Woodstock	B95	100	89,6	18,9	
Stoughton	B91	0	99,4	11,0	78,5
Stoughton	B91	25	96,2	11,9	79,2
Stoughton	B91	50	95,0	12,6	80,1
Stoughton	B91	100	94,3	14,1	79,8
Stoughton	B95	0	94,7	11,5	80,7
Stoughton	B95	25	98,1	12,5	81,8
Stoughton	B95	50	98,1	14,1	82,4
Stoughton	B95	100	99,0	14,3	81,3
Winnebago	B91	0	95,7	8,1	73,8
Winnebago	B91	25	98,5	8,8	74,4
Winnebago	B91	50	96,4	9,7	75,1
Winnebago	B91	100	94,4	11,5	76,4
Winnebago	B95	0	96,4	9,2	78,3
Winnebago	B95	25	94,8	10,3	79,8
Winnebago	B95	50	95,0	11,3	79,5
Winnebago	B95	100	89,8	12,7	80,8

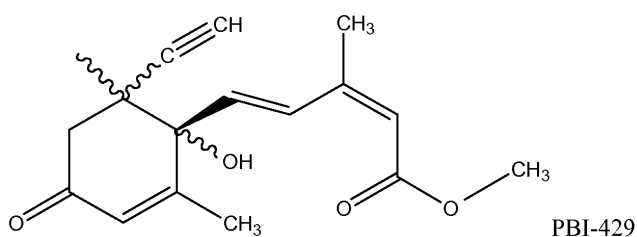
Tal como se muestra en la tabla 5, el tratamiento con ABA produjo un retraso progresivo y significativo en la emergencia de la tierra en cada sitio. Dicho tratamiento también retrasa progresivamente la antesis en Stoughton y Winnebago. Las plantas en las parcelas de Woodstock fueron barridas por una tormenta de viento antes de la antesis. Los tratamientos no redujeron significativamente la posición final en ninguno de los sitios.

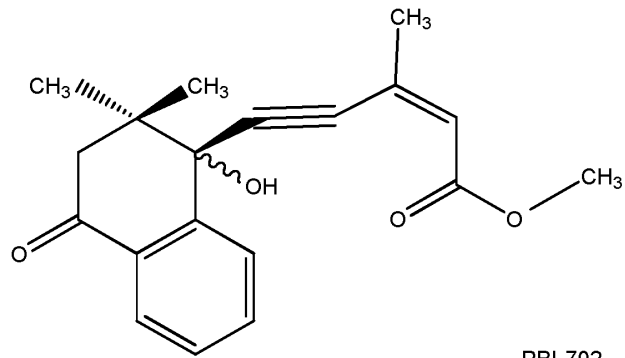
## REIVINDICACIONES

- 1.- Un método para retrasar la floración de plantas de maíz o canola empleadas como progenitores en la producción de semillas híbridas, que comprende aplicar una cantidad eficaz del ácido S-(+)-abscísico, o una de sus sales, PBI-429, PBI-702 o PBI-488, a semillas de dichas plantas, en el que dicha cantidad eficaz es desde  $0,5 \pm 10\%$  gramos a  $200 \pm 10\%$  gramos por 45,4 kg (100 libras) de dichas semillas, en el que el retraso mejora la sincronización de la floración y la prolongación del periodo de desprendimiento del polen de dichas plantas, en el que dicho método produce un aumento del tiempo térmico en suma térmica hasta la floración de dichas plantas, y en el que PBI-429, PBI-702 y PBI-488 comprenden las estructuras:



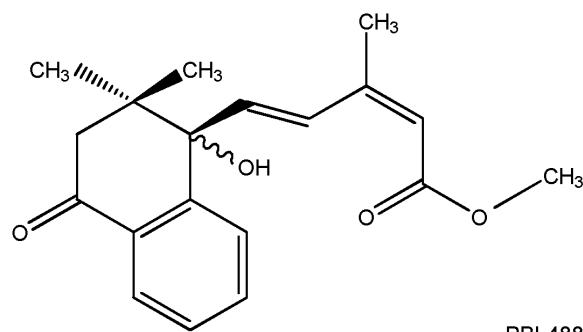
- 2.- Un método para mejorar el rendimiento o la pureza genética de semillas de maíz o canola híbridas, que comprende aplicar una cantidad eficaz del ácido S-(+)-abscísico, o una de sus sales, PBI-429, PBI-702 o PBI-488, a semillas de maíz o canola de los progenitores, en el que dicha cantidad eficaz es desde  $0,5 \pm 10\%$  gramos a  $200 \pm 10\%$  gramos por 45,4 kg (100 libras) de dichas semillas, en el que dicho método produce un aumento del tiempo térmico en suma térmica hasta la floración de plantas procedentes de dichas semillas, y en el que PBI-429, PBI-702 y PBI-488 comprenden las estructuras:





PBI-702

y



PBI-488

- 5 3.- El método de la reivindicación 1 o 2, en el que dicho método se combina con revestimientos poliméricos de las semillas.
- 4.- El método de la reivindicación 1 o 2, en el que dicho método produce un retraso en la emergencia en el campo de dichas plantas.