

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 632 419**

51 Int. Cl.:

A01C 1/00 (2006.01)

A01H 5/10 (2006.01)

A01G 7/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.10.2012 PCT/US2012/059747**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.04.2013 WO13055916**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.10.2012 E 12778014 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.05.2017 EP 2765845**

54 Título: **Métodos de mejora de la producción de grano en el maíz**

30 Prioridad:

14.10.2011 US 201161547142 P

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

13.09.2017

73 Titular/es:

**PIONEER HI-BRED INTERNATIONAL, INC.
(100.0%)
7100 N.W. 62nd Avenue
Johnston, IA 50131-1014, US**

72 Inventor/es:

**MIHURA, EDUARDO;
NELSON, SCOTT;
SAAB, IMAD;
SAYERS, ADDA y
SCHWARTE, AARON**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 632 419 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

Métodos de mejora de la producción de grano en el maíz

5 **Campo**

El descubrimiento pertenece al campo de la reproducción y la mejora de plantas, relacionado específicamente con un método de producción que proporciona ventajas, por ejemplo, acelerando la cosecha y aumentando el número o la proporción de semillas comercializables producidas.

10

Antecedentes

La producción comercial de semillas es un proceso que implica muchas etapas. En el caso del maíz, por ejemplo, las plantas endogámicas deben cruzarse primero en el campo en condiciones que permitan que el polen del progenitor masculino fertilice los estigmas de la mazorca del progenitor femenino para producir las semillas híbridas que serán vendidas al agricultor para su posterior plantación. La calidad de esta semilla híbrida afecta a su valor en el mercado.

15

Son muchos los factores que pueden afectar a la calidad de la semilla híbrida. Por ejemplo, las variaciones en el contenido de humedad, tamaño, forma o integridad del cultivo cosechado corriente arriba del proceso pueden influir en la eficacia de cada etapa adicional del proceso de producción de las semillas híbridas. Entonces puede producirse una variabilidad sustancial en el producto final, algo que no es deseable. Además, las variaciones en la semilla cosechada en cualquier etapa de la producción pueden requerir la recalibración del equipo u otros ajustes operativos para adaptarse a las variaciones. Es más, los ajustes de cualquier parámetro operativo en una etapa pueden producir efectos no deseados y/o ajustes adicionales en otra etapa. Por ejemplo, las tablas de gravedad pueden requerir un caudal relativamente constante para funcionar correctamente y, por lo tanto, puede ser necesario el uso de depósitos de compensación para igualar los caudales.

20

25

Por consiguiente, existe la necesidad en la técnica de sistemas y métodos mejorados de producción de semillas que aumenten la cantidad o la proporción de semilla comercializable, conservando y mejorando a la vez su capacidad de germinación.

30

Los presentes descubrimientos se refieren a estas técnicas de producción de semillas y, en particular, a una técnica en la que se trata la planta para inducir la defoliación en un determinado momento del desarrollo. En ciertas realizaciones, el calendario del tratamiento se basa en el contenido de humedad de la semilla en desarrollo. Cuando una planta se defolia en la etapa apropiada, se aumenta al máximo la producción de semillas comercializable. Las semillas que son demasiado grandes o demasiado pequeñas son rechazadas durante las operaciones de producción posteriores a la cosecha. Por lo tanto, la producción de más semillas del tamaño y/o forma comercialmente deseados aumenta la productividad por mazorca y por campo. La defoliación de una planta de maíz en el momento óptimo basado en el contenido de humedad de la semilla proporciona un mejor control del tamaño y/o de la forma de la semilla, lo que conduce a una mayor productividad en numerosos aspectos.

35

40

Además, la semilla producida usando las técnicas de defoliación desveladas presenta un mejor rendimiento en condiciones de crecimiento estresantes. Las semillas de plantas defoliadas muestran mejores tasas de germinación y emergencia, en particular, bajo estrés, y un establecimiento de maizales más uniformes de las mismas, así como un mayor rendimiento de grano con respecto a la semilla producida en plantas no defoliadas.

45

La productividad mejorada de las plantas es ventajosa debido al uso generalizado del maíz como alimento para los seres humanos, alimento para el ganado y como materia prima en la industria. Los usos alimentarios del maíz, además del consumo humano de los granos de maíz, incluyen las industrias de molienda tanto en seco como en húmedo. Los principales productos de la molienda en seco del maíz son el maíz triturado, el maíz molido y la harina de maíz. La industria de molienda en húmedo del maíz puede proporcionar almidón de maíz, jarabes de maíz y dextrosa para uso alimentario. El aceite de maíz se obtiene del germen de maíz, que es un subproducto de las industrias de molienda en seco y en húmedo. El maíz, incluyendo tanto las partes de grano como las que no son de grano de la planta, también se usa ampliamente como alimento para el ganado, principalmente para el ganado de carne, ganado lechero, cerdos y aves de corral.

50

55

Los usos industriales del maíz incluyen la producción de etanol, almidón de maíz en la industria de molienda en húmedo y harina de maíz en la industria de molienda en seco. Las aplicaciones industriales del almidón de maíz y de la harina se basan en propiedades funcionales, tales como la viscosidad, la formación de película, las propiedades adhesivas y la capacidad para suspender partículas. El almidón y la harina de maíz se aplican en las industrias del papel y textiles. Otros usos industriales incluyen aplicaciones en adhesivos, materiales de construcción, aglutinantes de fundición, almidones de lavandería, explosivos, lodos de pozos petrolíferos y otras aplicaciones mineras.

60

65

Las partes de las plantas que no son el grano del maíz también se usan en la industria: por ejemplo, los tallos y las cáscaras se convierten en papel y tableros, y se pueden usar para producir etanol celulósico. Las mazorcas se usan para la ropa de cama, para el combustible, y para fabricar el carbón de leña.

5 Sumario

Ciertas realizaciones proporcionan un método de mejora de la producción en un campo de siembra de maíz, en el que al menos una planta de maíz se defolia cuando el contenido de humedad de la semilla en desarrollo de la planta de maíz es del o aproximadamente del 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 o 70 %, y la planta se cosecha cuando el contenido de humedad de su semilla en desarrollo es del o aproximadamente del 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45 %.

Ciertas realizaciones proporcionan un medio para determinar el tiempo óptimo para la defoliación de una línea endogámica. Los factores de la determinación incluyen, pero sin limitación, el medio ambiente, la genética y el producto que se esté utilizando.

El uso de la defoliación apropiadamente programada proporciona numerosas ventajas que se analizan a lo largo del presente documento, incluyendo las figuras y los ejemplos. Estas ventajas incluyen, pero sin limitación, un mayor número de semillas por 0,45 kg (1 libra); un aumento del volumen o de la proporción de semillas comercializables por campo y por 4.046,86 m² (1 acre) de progenitores femeninos; una reducción del descarte de la semilla debido al tamaño o a la forma no deseados desde el punto de vista comercial; un menor contenido de humedad de la semilla en la cosecha; una fecha de cosecha anterior; menos combustible y tiempo dedicados al secado de las semillas para el almacenamiento; una mejora del rendimiento en los ensayos de laboratorio para la germinación a bajas temperaturas; mayor eficacia del tratamiento de las semillas; mejor emergencia bajo estrés en condiciones de campo; mejor capacidad de plantación en sistemas mecánicos; maizal más uniforme y mayor rendimiento de granos.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1 - El gráfico de barras superior muestra que en 472 campos de maíz de semillas de diversos híbridos, el tratamiento de defoliación ("DEFOL" o "aplicación de DEFOL") dio lugar a una media de 1.821 semillas por 0,45 kg (1 libra), lo que representa un aumento de 266 granos, o un 17 %, frente al control sin tratar ("CONTROL DE DEFOL"), que produjo una media de 1.555 semillas por 0,45 kg (1 libra). La diferencia en granos por 0,45 kg (1 libra) entre DEFOL y el control sin tratar fue significativa ($p < 0,001$). El gráfico de barras inferior muestra que en 472 campos de maíz de semillas, situados en el medio oeste de Estados Unidos, el tratamiento de DEFOL aumentó la proporción de las semillas comercializables en aproximadamente 3,4 puntos porcentuales. El gráfico muestra que las muestras no tratadas tenían una porción de semillas comercializables del 87,1 %, mientras que la semilla cosechada de la superficie con tratamiento de DEFOL resultó tener un 90,5 % de semilla comercializable. La diferencia en la semilla comercializable fue significativa, con $p < 0,0001$.

Figura 2 - El gráfico de barras de la parte superior izquierda representa la diferencia en el porcentaje de descarte de semillas de gran tamaño (semilla superior al tamiz de orificio redondo de 58,42/162,56 cm [23/64"]) entre dos tratamientos de 472 campos de semillas situados en el medio oeste de los Estados Unidos. El porcentaje de descarte de semillas de gran tamaño se redujo del 10,9 % al 5,7 % con el uso de DEFOL, para una reducción global del descarte de semillas de gran tamaño de 5,2 puntos porcentuales. La diferencia en el descarte de semillas de gran tamaño entre los dos tratamientos fue significativa, con $p < 0,0001$. El gráfico de barras superior derecho representa la diferencia en el porcentaje de descarte de semillas de pequeño tamaño (semilla inferior al tamiz de orificio redondo de 41,91/162,56 cm [16,5/64"]) entre los dos tratamientos de la semilla recolectada de 472 campos de semillas situados en el medio oeste de los Estados Unidos. El porcentaje de descarte de semillas de pequeño tamaño aumentó del 2,1 % en el control sin tratamiento ("CONTROL DE DEFOL") al 3,9 % (DEFOL), para un aumento global de 1,8 puntos porcentuales. La diferencia en el porcentaje de descarte de semillas de pequeño tamaño fue significativa, con $p < 0,0001$. El gráfico de barras inferior izquierdo representa el descarte basado en el tamaño total, es decir, las semillas demasiado grandes para su comercialización (descarte de semillas de gran tamaño) y las semillas demasiado pequeñas para su comercialización (descarte de semillas de pequeño tamaño), en los 472 campos de siembra situados en el medio oeste de Estados Unidos. El descarte basado en el tamaño total disminuyó del 13 % en la superficie de control no tratada al 9,5 % en la superficie tratada con DEFOL, para una reducción global de las semillas de descarte de 3,5 puntos porcentuales. La diferencia en el total de semillas descartadas entre los dos tratamientos fue significativa, con $p < 0,0001$.

Figura 3 - El presente gráfico representa la diferencia en los granos por 0,45 kg (1 libra) para la semilla de la superficie con tratamiento de DEFOL y la semilla de la superficie no tratada en 472 campos de siembra situados en el medio oeste de Estados Unidos. En el 95 % de los 472 campos de siembra, el número de granos por 0,45 kg (1 libra) ("GRANO/0,45 KG") fue superior en la superficie con tratamiento de DEFOL que en la superficie no tratada.

Figura 4 - El presente gráfico representa la correlación, y proporciona una predicción, entre los granos por 0,45 kg (1 libra) de semilla de la superficie no tratada y los granos por 0,45 kg (1 libra) de semilla de la superficie tratada. La ecuación de regresión proporciona una estimación de los granos por 0,45 kg (1 libra) después de un tratamiento de DEFOL realizado a aproximadamente el 60 % de humedad de semilla en desarrollo, basado en

los granos por 0,45 kg (1 libra) de la línea endogámica no tratada. Por ejemplo, si una línea endogámica normalmente produce semillas de 1.500 granos por 0,45 kg (1 libra), una aplicación de DEFOL al aproximadamente 60 % de humedad del grano aumentaría el número de granos por 0,45 kg (1 libra) a 1.766 $((1,0382 \times 1.500) + 208,26)$.

Figura 5 – El presente gráfico representa la diferencia en la humedad del grano de cosecha en la semilla de la superficie tratada ("DEFOL") y de la superficie no tratada ("SIN TRAT") de 313 campos de siembra situados en el medio oeste de Estados Unidos. Las barras por debajo de la línea del eje x 0 indican que la semilla de la superficie con tratamiento de DEFOL era de menor humedad de grano que la semilla de su correspondiente superficie no tratada.

Figura 6 – El presente gráfico representa el % de emergencia de campo (establecimiento del cultivo) para las semillas tratadas ("DEFOL") y no tratadas ("CONTROL") en ubicaciones de campo bajo estrés y sin estrés. Cada una de las barras representa el % medio de emergencia para 16 híbridos Pioneer. Las semillas tratadas y no tratadas de cada híbrido se produjeron en los mismos campos de siembra en 2010 (véase el Ejemplo 1). Las semillas se sembraron en el campo en la primavera de 2011. Las ubicaciones se consideraron bajo estrés ("ubic. con estrés") si la emergencia media de todos los híbridos fue del 85 % o inferior, o si la temperatura del suelo permaneció a 10 °C o inferior durante dos semanas después de la siembra. Las ubicaciones en las que el % de emergencia medio de todos los híbridos fue superior al 85 % se consideraron "ubic. sin estrés". Las siguientes ubicaciones se consideraron "ubic. con estrés": Eau Claire, WI; Janesville, WI; Schuyler, NE; Minburn, IA; Flandreau, SD. Las ubicaciones "sin estrés" fueron Johnstown, ND y Coteau du Lac, Canadá.

Figura 7 – El presente gráfico representa el % de emergencia de campo (establecimiento del cultivo) para las semillas tratadas ("DEFOL") y no tratadas ("CONTROL") de ocho híbridos Pioneer. Las semillas tratadas y no tratadas de cada híbrido se produjeron en los mismos campos de siembra en 2010 (véase el Ejemplo 1). Las semillas se sembraron en el campo en la primavera de 2011 en las siguientes ubicaciones: Eau Claire, WI; Janesville, WI; Schuyler, NE; Minburn, IA; Flandreau, SD. Las barras representan el % de emergencia medio en todas las ubicaciones.

Figura 8 – El presente gráfico representa el rendimiento en fanegas por 4.046,86 m² (1 acre) para semillas tratadas ("DEFOL") y no tratadas ("CONTROL") en dos ubicaciones de campo. Cada una de las barras representa el rendimiento medio para 15 híbridos Pioneer. Las semillas tratadas y no tratadas de cada híbrido se produjeron en los mismos campos de siembra en 2011 (véase el Ejemplo 1). Las semillas se plantaron en la primavera de 2011.

Descripción detallada

Las realizaciones y los aspectos tratados en el presente documento se describen en combinación con sistemas, herramientas y métodos que se pretende que sean de ejemplo e ilustrativos, y no limitantes de alcance. En diversas realizaciones, uno o más de los problemas descritos anteriormente se han reducido o eliminado, mientras que otras realizaciones se dirigen a otras mejoras.

Los cultivos de campo se cultivan mediante técnicas que aprovechan el método de polinización de las plantas. En la aplicación práctica de un programa de reproducción seleccionado, el obtentor suele escoger inicialmente y cruzar dos o más líneas progenitoras, seguido de la autofecundación repetida y de la selección, produciéndose así muchas combinaciones genéticas únicas. Teóricamente, el obtentor puede generar miles de millones de combinaciones genéticas diferentes a través del cruce, la autofecundación y la mutagénesis. Por lo tanto, es muy improbable que dos obtentores desarrollen independientemente la misma variedad que tenga los mismos rasgos.

En cada ciclo de evaluación, el obtentor de plantas selecciona el germoplasma para avanzar a la siguiente generación. Este germoplasma se cultiva en condiciones geográficas, climáticas y de suelo seleccionadas y, opcionalmente, se somete a pruebas de tolerancia al estrés, resistencia a los insectos y otros rasgos. A continuación, se realizan selecciones adicionales durante y después de la estación de crecimiento.

Se usan técnicas de producción para manejar la propagación del híbrido de maíz, semilla por la que se comercializará en el mercado. En general, se plantan un ejemplar masculino endogámico y un ejemplar femenino endogámico en un campo con una o más hileras femeninas por hilera masculina. Las plantas de la hilera femenina se desbaratan antes de producir polen, provocando así que el polen de la hilera masculina fertilice las mazorcas de la hilera femenina. Como alternativa, la planta femenina puede ser andro-estéril y no producir polen. En cualquier caso, el resultado es que el polen de la planta masculina fertiliza la mazorca de la planta femenina, produciendo así la semilla híbrida. Entonces, se cosecha dicha semilla.

Las técnicas de cosecha pueden tener un efecto significativo en la calidad de la semilla. Por ejemplo, la cosecha debe tener lugar en el momento adecuado, cuando la semilla es del tamaño apropiado y se encuentra en la etapa de desarrollo adecuada. Algunas técnicas, tales como las desveladas en el presente documento, se pueden usar para aumentar la calidad de la semilla en o cerca del momento de la cosecha y/o durante el almacenamiento y la manipulación posteriores a la cosecha. Estos atributos de calidad pueden incluir uno o más de los siguientes: mayor número de semillas por 0,45 kg (1 libra); aumento del volumen o de la proporción de las semillas comercializables por campo y por 4.046,86 m² (1 acre) femenino; reducción del descarte de la semilla para el tamaño o la forma no deseados desde el punto de vista comercial; menor contenido de humedad de la semilla en la cosecha; fecha de

5 cosecha anterior; menos combustible y tiempo dedicado al secado de las semillas para el almacenamiento, lo que también reduce la inversión en capacidad de secado; mejora de la integridad de las semillas durante los tratamientos posteriores a la cosecha debido a la reducción de la exposición del embrión en las semillas más planas; mejora del rendimiento en los ensayos de laboratorio para la germinación a bajas temperaturas o en otras condiciones de estrés; una cobertura más uniforme de las semillas mediante tratamientos químicos de semillas, mejorando así la eficacia del tratamiento; reducción del peso de la bolsa de semillas convencional de 80.000 granos, proporcionando ventajas ergonómicas para una población de agricultores envejecida; mejor capacidad de plantación en sistemas mecánicos; mejor emergencia bajo estrés en condiciones de campo; un establecimiento de maizales más uniformes y un mejor rendimiento de grano.

10 En una realización, la presente divulgación proporciona un tratamiento optimizado de la planta hembra endogámica que porta la mazorca que comprende la semilla híbrida, con el fin de producir un mayor número o una mayor proporción de semilla comercializable. La semilla comercializable es la que, entre otros rasgos, es viable y es del tamaño y de la forma deseados desde el punto de vista comercial.

15 El tratamiento de defoliación comprende acelerar el dorado del material foliar y detener o reducir significativamente la fabricación de fotosintatos y/o el movimiento de los fotosintatos desde la hoja hasta la mazorca. Esto se puede realizar, por ejemplo, pulverizando el campo de producción con cualquiera de una serie de soluciones defoliantes de sales o herbicidas, incluyendo, pero sin limitación, IGNITE®, diquat, paraquat, glifosato y clorato de sodio [LATA1].
 20 Como alternativa o además, la defoliación puede producirse por medios mecánicos, por medios manuales o por cualquier combinación de medios manuales, mecánicos y/o químicos. En ciertas realizaciones pueden producirse más de un tratamiento de defoliación. El proceso reivindicado no depende del método en el que la planta se defoliese. Los métodos son aplicables tanto a las plantas masculinas estériles como a las masculinas fértiles. Una planta de control o campo de control o tratamiento de control corresponderá a la planta o al campo de ensayo, a menos que
 25 no reciba el tratamiento de defoliación.

30 Los métodos anteriores de defoliación fueron diseñados para mejorar el vigor de la semilla sin reducir el tamaño de la misma. Véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. n.º 6.162.974, en la columna 4: "El tamaño de las semillas de una cosecha de semillas de maíz es una consideración comercial importante, porque se prefiere un tamaño de semilla mayor en el mercado". Por el contrario, los métodos de defoliación actuales están diseñados para afectar al tamaño y a la forma de las semillas, produciendo deliberadamente semillas más pequeñas, más planas y más uniformes.

35 Además, los métodos previos de defoliación se basaban en la Suma Térmica (ST) para determinar el momento adecuado para la defoliación. El impacto de la ST sobre la maduración de la planta varía entre las plantas endogámicas (como se muestra en la Tabla 1 de la patente de EE.UU. n.º 6.162.974). Además, la ST se debe volver a calcular cada día de cada año, y la interacción entre la ST y la maduración de la planta se complica por factores tales como los que incluyen, pero sin limitación, el tipo de suelo y la precipitación. Por lo tanto, un método de defoliación basado en la ST está sujeto a variabilidad ambiental.

40 Por el contrario, el nivel de humedad de las semillas es una característica estable, coincidente con una endogamia entre las ubicaciones y a través de los años, incluso con condiciones climáticas variables y, por lo tanto, es una predicción más fiable del momento óptimo para la defoliación. La determinación del nivel óptimo de humedad de las semillas en el que se produce la defoliación se realiza mediante extensas pruebas y la calibración de los efectos de la defoliación, lo que engloba variables de genética, tipo de tratamiento, calendario del tratamiento y condiciones medioambientales.

45 El uso de la defoliación apropiadamente programada basada en el contenido de humedad de las semillas proporciona numerosas ventajas que incluyen, pero sin limitación, un mayor número de semillas por kg; un aumento del volumen o de la proporción de semillas comercializables por campo y por 4.046,86 m² (1 acre) de progenitores femeninos; una reducción del descarte de la semilla debido al tamaño o a la forma no deseados desde el punto de vista comercial; un menor contenido de humedad de la semilla en la cosecha; una fecha de cosecha anterior; menos combustible y tiempo dedicados al secado de las semillas para el almacenamiento; una mejora del rendimiento en los ensayos de laboratorio para la germinación a bajas temperaturas; mayor eficacia del tratamiento de las semillas;
 50 mejor emergencia bajo estrés en condiciones de campo; mejor capacidad de plantación en sistemas mecánicos; maizales más uniformes; menor número de plantas enanas y mayor rendimiento de granos.

55 Los factores clave de dicha determinación (elección endogámica) son el tamaño inicial de la semilla (granos por 0,45 kg (1 libra)) y la capacidad de aparición bajo estrés de la planta femenina (germinación). El tamaño de la semilla es un componente más crítico, ya que la defoliación puede hacer que las semillas sean demasiado pequeñas, lo que conduce a niveles inaceptables de descarte.

60 El otro componente es la elección de plantas endogámicas que tengan probabilidad de responder a la defoliación produciendo híbridos con mayor germinación y establecimiento de cultivos, especialmente en condiciones estresantes. La elección de estas plantas endogámicas implica caracterizar el rasgo de emergencia bajo estrés para los híbridos con estas plantas endogámicas como las plantas femeninas. Esto se logra evaluando el material en una
 65

combinación de ensayos de germinación de laboratorio y ensayos de campo plantados prematuramente. Los datos combinados se usan para asignar una puntuación de emergencia bajo estrés que caracteriza la capacidad del material para emerger en condiciones de estrés. Las plantas endogámicas que se prevé que produzcan híbridos con puntuaciones de emergencia de estrés por debajo de la media se consideran candidatas a la defoliación.

5 Como se usa en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "una", "el" y "la" incluyen los referentes en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por lo tanto, por ejemplo, la referencia a "una planta" incluye una pluralidad de dichas plantas, la referencia a "una célula" incluye una o más células, la referencia a "una semilla" incluye la pluralidad de dichas semillas y los equivalentes de las mismas conocidos por los expertos en la materia, y así sucesivamente.

"Determinar" o "determinación" se refiere a medir, valorar, evaluar, estimar, controlar y/o predecir.

15 El "defoliante" es cualquier compuesto que retardará o detendrá la producción de fotosintatos y/o el movimiento de los fotosintatos de la hoja a la mazorca, e incluye, pero sin limitación, herbicidas y composiciones de sales que pueden matar a la planta. Estas composiciones también pueden incluir tensioactivos.

20 "Defoliación" significa la eliminación, destrucción o desecación de una proporción sustancial de tejido foliar de una planta, en general, al menos el 50 %, hasta e incluyendo el 100 %. La defoliación puede producirse por medios químicos o físicos (mecánicos y/o manuales), o por cualquier combinación de dichos medios. Una combinación de medios físicos y químicos de defoliación puede ser particularmente ventajosa en condiciones tales como la sequía que, de otro modo, podría dar lugar a una polinización deficiente y al desarrollo de un bajo número de granos grandes.

25 El término "emerger" o "emergencia" se refiere a la aparición de un brote de plántula sobre el medio de germinación, por ejemplo, la superficie del suelo en un campo.

30 El término "tasa de emergencia" se refiere a un porcentaje de semillas plantadas que emergen. Por ejemplo, la tasa de emergencia del 80 % indica que 80 de cada 100 semillas plantadas emergen.

35 "Gen" se refiere a un fragmento de ácido nucleico que expresa una proteína específica, incluyendo las secuencias reguladoras que preceden (secuencias 5' no codificantes) y siguen (secuencias no codificantes 3') a la secuencia codificante. "Gen nativo" se refiere a un gen como se encuentra en la naturaleza con sus propias secuencias reguladoras. "Gen quimérico" se refiere a cualquier gen que no sea un gen nativo, que comprende secuencias reguladoras y de codificación que no se encuentran juntas en la naturaleza. Por consiguiente, un gen quimérico puede comprender secuencias reguladoras y secuencias codificantes que derivan de diferentes fuentes, o secuencias reguladoras y secuencias codificantes derivadas de la misma fuente, pero dispuestas de una manera diferente a la encontrada en la naturaleza. Un gen "foráneo" se refiere a un gen que no se encuentra normalmente en el organismo hospedador, pero que es introducido en el organismo hospedador mediante transferencia génica. Los genes foráneos pueden comprender genes nativos insertados en un organismo no nativo o genes quiméricos. Un "transgén" es un gen que ha sido introducido en el genoma mediante un procedimiento de transformación.

45 El término "germinación" se refiere a las etapas iniciales en el crecimiento de una semilla para formar una plántula. Una semilla se considera germinada si muestra signos de protrusión radicular (raíz) o de brotes, o si las estructuras de plántulas emergentes cumplen con criterios específicos tales como los de las Normas Internacionales para los Ensayos con Semillas (International Seed Testing Association, ISTA) o la Asociación de Analizadores Oficiales de Semillas, Inc., AOSA).

50 El término "germinado" puede referirse a una semilla que ha producido una plántula vegetal viable con o sin exposición a la luz en una cámara de germinación, una cabina de crecimiento, un invernadero o el campo.

La expresión "tasa de emergencia" o "porcentaje de germinación" se refiere a un porcentaje de semillas plantadas que emergen. Por ejemplo, la tasa de emergencia del 80 % indica que 80 de cada 100 semillas plantadas emergen.

55 Una "planta híbrida" o "progenie híbrida" es un individuo producido a partir de progenitores genéticamente diferentes (es decir, un individuo genéticamente heterocigótico o principalmente heterocigótico). Por lo general, los precursores de un híbrido difieren en varios aspectos importantes. Los híbridos suelen ser más vigorosos que cualquiera de los precursores, pero no pueden reproducirse de verdad.

60 La expresión "variedad híbrida" se refiere a una línea híbrida sustancialmente heterocigótica y a modificaciones genéticas menores de la misma que retienen la genética global de la línea híbrida incluyendo, pero sin limitación, una conversión de locus, una mutación o una variante somoclonal.

65 "Aumento de la germinación en condiciones de estrés" como se usa en el presente documento es una medida de la capacidad de las semillas para germinar en condiciones de estrés, incluyendo, pero sin limitación, condiciones tales como suelos fríos saturados, sequía, inundación y calor, en comparación con una semilla de genética coincidente

que germina en las mismas condiciones de estrés.

Una "planta" puede ser una planta entera, cualquier parte de la misma, o un cultivo celular o tisular derivado de una planta. Por lo tanto, el término "planta" puede referirse a cualquiera de: plantas enteras, componentes u órganos de plantas (por ejemplo, hojas, tallos, raíces, etc.), tejidos vegetales, semillas, células vegetales y/o la progenie de las mismas. Una célula vegetal es una célula de una planta, tomada de una planta o derivada a través de cultivo de una célula tomada de una planta. Las células vegetales incluyen, sin limitación, células de semillas, cultivos en suspensión, embriones, regiones meristemáticas, tejido de callos, hojas, raíces, brotes, gametofitos, esporofitos, polen y microesporas.

El término "progenie" se refiere a los descendientes de una determinada planta (autocruce) o par de plantas (polinización cruzada). Los descendientes pueden ser, por ejemplo, de la generación F1, la generación F2 o cualquier generación posterior.

El término "enana/s" se refiere a una planta o plántula que es visualmente más pequeña que las plantas vecinas en el campo. Una planta se considera enana si se encuentra una o dos etapas de la hoja detrás de la media para las plantas circundantes, o si su altura está reducida un tercio o más en comparación con las plantas circundantes. Los términos "enana/s" y "uniformidad" se suelen usar para describir fenotipos similares, por lo que un menor número de plantas enanas se asocia con una mayor uniformidad de emergencia de las semillas o establecimiento de maizales y viceversa.

"Semilla", como se usa en el presente documento, se refiere a una parte de una planta híbrida o endogámica que comprende un embrión.

El "establecimiento de maizales", como se usa en el presente documento, es la capacidad de un grupo de semillas para emerger y formar plántulas normales, comúnmente en condiciones de campo. El establecimiento de maizales también puede denominarse establecimiento de grupos de plantas o de cultivos.

El término "estrés", la expresión "condiciones de estrés" y las expresiones relacionadas se refieren a cualquier factor que disminuya el crecimiento y la reproducción de la planta por debajo del potencial genotípico de la planta, incluyendo, pero sin limitación, suelo frío, inundación (inmersión), lluvia fría, helada, nieve, compactación del suelo y residuos excesivos de cultivos anteriores. La tolerancia al estrés se refiere a la capacidad de una especie vegetal o de una especie de cultivo para soportar el estrés.

La "humedad de la semilla" se puede determinar de varias maneras, pero se suele emplear un analizador de humedad Ohaus® y usarse según las instrucciones del fabricante. La humedad de la semilla es una medida importante, ya que indica la maduración de la semilla y afecta a la susceptibilidad a algunas enfermedades. Otros métodos de determinación de la humedad de la semilla incluyen, pero sin limitación, el secado por incubación, cabinas de secado, secado por aire forzado, secado al horno, secado en microondas, secado al sol y secado sobre soluciones salinas saturadas (véase Abendroth, *et al.*, (2011) PMR 1009, "Corn Growth and Development," Iowa State University and Winston and Bates, (1960) *Ecology* 41:232-237). Se pueden usar diversos desecantes en combinación con métodos de secado de semillas. Las semillas se pueden secar a un intervalo de temperaturas, incluyendo la temperatura ambiente y la temperatura ambiente exterior, con o sin circulación de aire.

La presente divulgación se refiere además a células vegetales transgénicas y plantas transgénicas transformadas para contener y expresar un polinucleótido. "Transformado", "transfectado" o "transgénico" se refiere a una célula, un tejido, un órgano u un organismo en el que se ha introducido un ácido nucleico foráneo, tal como un vector recombinante. Preferentemente, el ácido nucleico introducido está integrado en el ADN genómico de la célula, del tejido, del órgano o del organismo receptor, de manera que el ácido nucleico introducido sea heredado por la siguiente progenie. Una célula o un organismo "transgénico" o "transformado" también incluye la progenie de la célula o del organismo, y la progenie producida a partir de un programa de reproducción que emplee dicha planta "transgénica" como progenitor en un cruce y que presenta un fenotipo alterado resultante de la presencia de una construcción o vector recombinante. Actualmente, se conocen y están disponibles varios métodos de transformación de plantas. Por ejemplo, la introducción de secuencias de ADN en plantas y/o células vegetales puede realizarse mediante transformación mediada por *Agrobacterium*, transformación mediada por vectores virales, electroporación y transformación mediada por bombardeo con microproyectiles (pistola de partículas o métodos de biolística). La secuencia de ADN también puede transformarse directamente en el genoma plastidial mediante transformación de plástidos. Como se usa en el presente documento, el término "plástido" significa la clase de orgánulos de células vegetales que incluye amiloplastos, cloroplastos, cromoplastos, eleioplastos, eoplastos, etioplastos, leucoplastos y proplástidos. Estos orgánulos se autorreplican, y contienen lo que comúnmente se conoce como el "genoma del cloroplasto", una molécula de ADN circular que varía en tamaño de aproximadamente 120 a aproximadamente 217 kb, dependiendo de la especie vegetal, y que normalmente contiene una región de repetición invertida.

Los eventos transgénicos pueden incluir rasgos para la resistencia a herbicidas, sequías, rendimiento, contenido de aceite de la semilla y contenido de almidón de la semilla, partición de carbono dentro de la semilla, resistencia a insecticidas, o uno cualquiera o más de una miríada de otros rasgos.

Se pueden usar tratamientos y recubrimientos de semillas en semillas producidas usando los métodos desvelados. El uso de recubrimientos y tratamientos de semillas es conocido en la técnica; véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. n.º 5.876.739. La combinación del tratamiento de defoliación y el tratamiento/recubrimiento de semillas puede proporcionar efectos aditivos deseables. Aunque se cree que los tratamientos de semillas pueden aplicarse a una semilla en cualquier estado fisiológico, se prefiere que la semilla esté en un estado suficientemente duradero para que no se produzca ningún daño durante el proceso de tratamiento. Por lo general, la semilla sería una semilla que se habría cosechado del campo, se habría retirado de la planta y se habría separado de cualquier otro material vegetal distinto de la semilla. La semilla preferentemente también sería biológicamente estable en la medida en que el tratamiento no causara daño biológico a la semilla. Se produce una mejor cobertura con la formulación de tratamiento de semillas con la semilla más pequeña y más plana producida mediante los métodos desvelados en el presente documento; a su vez, una mejor cobertura puede proporcionar una mayor eficacia. En una realización, por ejemplo, el tratamiento puede aplicarse al maíz sembrado que ha sido cosechado, limpiado y secado hasta un contenido de humedad por debajo del aproximadamente 15 % en peso. En una realización alternativa, la semilla puede ser una que se haya secado y luego cebado con agua y/u otro material y después volverse a secar antes o durante el tratamiento. Dentro de las limitaciones que se acaban de describir, se cree que el tratamiento puede aplicarse a la semilla en cualquier momento entre la cosecha de la semilla y la siembra de la semilla.

Como se usa en el presente documento, la expresión "semilla no sembrada" pretende incluir la semilla en cualquier período entre la cosecha de la semilla y la siembra de la semilla en el suelo con el objetivo de la germinación y del crecimiento de una planta.

El término "rendimiento" se refiere a la productividad por unidad de superficie de un determinado producto vegetal de valor comercial. Por ejemplo, el rendimiento del maíz se mide comúnmente en fanegas de semilla por 4.046,86 m² (1 acre) o toneladas métricas de semilla por hectárea por estación. El rendimiento se ve afectado por factores tanto genéticos como medioambientales. La "agronomía", los "rasgos agronómicos" y el "desempeño agronómico" se refieren a los rasgos (y elementos genéticos subyacentes) de una variedad vegetal dada que contribuyen al rendimiento durante el período vegetativo. Los rasgos agronómicos individuales incluyen el vigor de la emergencia, el vigor vegetativo, la tolerancia al estrés, la resistencia o la tolerancia a las enfermedades, la resistencia a los herbicidas, la ramificación, la floración, el conjunto de semillas, el tamaño de la semilla, la densidad de la semilla, la resistencia al volcado, la capacidad de desgranado y similares. El rendimiento es, por lo tanto, la culminación final de todos los rasgos agronómicos.

Se contemplan los productos y/o las composiciones de importancia agronómica y comercial, incluyendo, pero sin limitación, los piensos para animales, productos básicos y productos de semillas y subproductos destinados a su uso como alimento para el consumo humano o para su uso en composiciones destinadas al consumo humano, incluyendo, pero sin limitación, harina, sémola, jarabe, aceite, almidón, alimentos que contienen semillas o partes de semillas y subproductos de semillas, y similares, si estos productos y composiciones en cuestión se derivan o se obtienen directamente de una semilla producida usando los métodos de la presente invención. Dichos productos y/o composiciones también se denominan en el presente documento muestras biológicas. Las muestras biológicas pueden derivarse de la planta, del tejido vegetal o de la semilla producida por la planta.

Aunque la invención anterior se ha descrito con cierto detalle a modo ilustrativo y de ejemplo con fines de facilitar la comprensión, será evidente que se pueden realizar ciertos cambios y modificaciones dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

Ejemplos

Los ejemplos descritos en el presente documento pretenden ser representativos y ejemplos de los descubrimientos, y no limitan el alcance de las reivindicaciones.

Ejemplo 1: Implementación del tratamiento de defoliación

En 2010, en 472 campos de semillas del medio oeste de Estados Unidos, se trataron campos enteros con Defol® 750 (clorato de sodio de Drexel Chemical Company) de acuerdo con las instrucciones del fabricante, y se dejó una franja de control de cada campo sin tratar (es decir, la franja de ensayo sin tratar no se pulverizó con el agente defoliante). La franja de control tenía la anchura de un brazo de pulverización y la longitud del campo de siembra dentro de una zona representativa del campo de siembra. Se aplicó Defol® 750 al 55-60 % de humedad de la semilla que se determinó usando un analizador de humedad Ohaus® MB35. Después del tratamiento, se dejaron secar las semillas de manera natural en el campo hasta aproximadamente la o casi la madurez fisiológica (~32 % de humedad de la semilla). De uno a dos días antes de la cosecha a máquina del campo, se descascarillaron todas las mazorcas cosechables de 12 plantas consecutivas de 3 zonas diferentes de cada tratamiento (DEFOL, control sin tratar) y se introdujeron en bolsas de arpillera. Se colocó una etiqueta que indicaba la ubicación, el número de campo y el tratamiento en el exterior y el interior de la bolsa. Una mazorca cosechable se describió como una mazorca igual o superior a 10,16 cm (4 pulgadas) de longitud con más de 30 granos. No se incluyeron las mazorcas con más del 25 % de daño por enfermedades o insectos. Se transportaron las bolsas de arpillera a la planta de producción local y se secaron en los túneles inferiores de las secadoras de gran producción durante 3 a 4 días (o

hasta aproximadamente el 12 % de humedad de las semillas). Se determinó la humedad de la semilla en el momento de la cosecha de las muestras recogidas de cada zona de tratamiento usando un analizador de la humedad DICKEYjohn® GAC®.

5 Se usó una desgranadora para parcelas pequeñas (AEC, desgranadora de lotes pequeños) para desgranar la semilla de la mazorca. Una vez desgranada, se pasó la semilla sobre un calibrador de muestras dotado de tamices de orificios redondos (RH) de 58,42/162,56 cm (23/64 pulgadas) y 41,91/162,56 cm (16,5/64 pulgadas) de RH. La semilla que quedó sobre el tamiz de 58,42/162,56 cm (23/64 pulgadas) de HR se considera demasiado grande para su comercialización (descarte de semillas grandes). La semilla que pasa a través del tamiz de RH de 41,91/162,56
10 cm (16,5/64 pulgadas) se considera demasiado pequeña para su comercialización, y se descarta (descarte de semillas pequeñas). La semilla que pasa a través del tamiz de 58,42/162,56 cm (23/64 pulgadas), pero permanece sobre el tamiz de RH de 41,91/162,56 cm (16,5/64 pulgadas) se considera semilla comercializable en términos de tamaño y de forma. A partir de la semilla comercializable, se contó el número de granos que había en 113,40 g (0,25 libras) de la semilla comercializable usando un contador de semillas de tazón para determinar los granos por 0,45 kg (1 libra). Se realizó un análisis estadístico mediante procedimientos de ensayo t del Sistema de Análisis Estadístico (SAS, Inst., Cary NC). Se prefieren las semillas uniformes y, en particular, las semillas más planas, más pequeñas y uniformes, para la facilidad y la eficacia del tratamiento, envasado, transporte, manipulación y siembra. Además, las semillas que son menos redondas han reducido la incidencia del síndrome de "embrión elevado". Los embriones elevados aumentan la susceptibilidad al daño físico durante el acondicionamiento y la manipulación de las semillas.

20 Además, el tratamiento de defoliación acelera la maduración y el secado de manera que, por lo general, se pueda producir la cosecha de 4 a 5 días antes que el control no tratado en condiciones típicas de cosecha y hasta 14 días antes en condiciones climáticas más frías. Esto es ventajoso para evitar las pérdidas de campo debidas a las inclemencias del tiempo. También reduce el combustible y la capacidad de la secadora necesarios para el secado tras la cosecha.

Ejemplo 2: El tratamiento de defoliación produce semillas con un mejor establecimiento de maizales y rendimiento final del grano

30 Se sembraron semillas híbridas producidas a partir de campos tratados con Defol® 750 y de franjas de control sin tratamiento en siete ubicaciones de campo en la primavera de 2011. Se produjeron semillas de híbridos defoliados y de control en los mismos campos de siembra en 2010. Se sembraron las semillas entre el 12 de abril y el 18 de mayo en Eau Claire, WI, Janesville, WI, Schuyler, NE, Minburn, IA, Flandreau, SD, Johnstown, ND and Coteau du Lac, Canadá. Se evaluó la emergencia de los cultivos de la etapa V3 a V4 en todas las ubicaciones y se registró la emergencia como el porcentaje de semillas plantadas que emergieron y produjeron plántulas normales. Por ejemplo, si se sembraron 30 semillas y surgieron 21 semillas, se informa de una emergencia del 70 %.

40 Una ubicación se consideró bajo estrés si la emergencia media de todos los híbridos fue del 85 % o inferior, o si la temperatura del suelo permaneció a 10 °C o inferior durante dos semanas después de la siembra. Las ubicaciones en las que el % de emergencia medio de todos los híbridos fue superior al 85 % se consideraron ubicaciones no sometidas a estrés. Las siguientes ubicaciones se consideraron sometidas a estrés: Eau Claire, WI; Janesville, WI; Schuyler, NE; Minburn, IA; Flandreau, SD. En conjunto, estas ubicaciones tuvieron una media de emergencia del 74 %. Las ubicaciones no sometidas a estrés fueron Johnstown, ND y Coteau du Lac, Canadá, que, conjuntamente, tuvieron una media de un 91 % de emergencia. Como media, las semillas de híbridos defoliados tuvieron un 10 %
45 más de emergencia en las ubicaciones bajo estrés y un 4 % más de emergencia en las ubicaciones no sometidas a estrés, en comparación con los controles no defoliados (FIG 6). La Figura 7 muestra la diferencia en el % de emergencia para ocho híbridos individuales defoliados y de control del ensayo.

50 Los datos de rendimiento se recogieron en Schuyler, NE y Minburn, IA. Se cosecharon manualmente quince híbridos producidos mediante tratamientos de defoliación y de control con aproximadamente un 18 % de humedad, y se agruparon los datos de las dos ubicaciones. Como media, las semillas de los híbridos defoliados resultaron tener aproximadamente 14 fanegas más por 4.046,86 m² (1 acre) en la ubicación de Schuyler y aproximadamente 23 fanegas más por 4.046,86 m² (1 acre) en la ubicación de Minburn.

55

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método de aumento de la producción de semillas de maíz comercializables de un campo de producción de semillas híbridas, que comprende:
- (i) determinar el contenido de humedad de la semilla; y
 - (ii) tratar dicho campo con un medio de defoliación, en el que el calendario del tratamiento se basa en el contenido de humedad de la semilla, estando el % de contenido de humedad entre el 35 % y el 70 % en el momento del tratamiento.
- 10 2. Un método de desarrollo de semillas de maíz a partir de un campo de producción de semillas híbridas, en el que dicha semilla de maíz tiene mayor porcentaje de germinación, tasa de emergencia y/o aumento de la uniformidad de la emergencia en condiciones de campo, comprendiendo dicho método:
- (i) determinar el contenido de humedad de la semilla; y
 - (ii) tratar dicho campo con un medio de defoliación, en el que el calendario del tratamiento se basa en el contenido de humedad de la semilla, estando el % de humedad de la semilla entre el 35 % y el 70 % en el momento del tratamiento.
- 15 3. El método de la reivindicación 2, en el que dicha semilla se cultiva en condiciones de campo bajo estrés.
- 20 4. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la defoliación es mediante medios químicos.
- 25 5. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que se realizan múltiples tratamientos de defoliación.
- 30 6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que se aumenta la proporción de semillas planas.
- 35 7. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que se aumenta el número de granos por 0,45 kg (1 libra).
- 40 8. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la semilla cosechada presenta, con respecto a un control, uno o más de los siguientes: adelanto de la cosecha; reducción de la humedad en la cosecha; reducción de los requisitos de secado tras la cosecha; mayor consistencia del tamaño; mejor porcentaje de germinación o tasa de emergencia en ensayos de estrés de laboratorio; mejor capacidad de siembra por medios mecánicos; mayor porcentaje de emergencia o tasa de emergencia en condiciones de campo; emergencia más uniforme en condiciones de campo; menor número de plántulas enanas o atrofiadas; y mayor rendimiento del grano.
- 45 9. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la semilla se cosecha a una humedad de entre el 20 % y el 45 %.
- 50 10. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el % de humedad de la semilla es de entre el 50 % y el 70 % en el momento del tratamiento.
- 55 11. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la planta comprende un evento transgénico que transmite un rasgo seleccionado del grupo que consiste en esterilidad masculina, recombinación específica del sitio, tolerancia al estrés abiótico, niveles alterados de fósforo, niveles alterados de antioxidantes, niveles alterados de ácidos grasos, niveles alterados de aminoácidos esenciales, niveles alterados de hidratos de carbono, resistencia a herbicidas, resistencia a insectos y resistencia a enfermedades.
- 60 12. Un método de reducción de la cantidad de semillas descartadas de un campo de producción de semillas de maíz que comprende:
- (i) determinar el contenido de humedad de la semilla; y
 - (ii) tratar dicho campo con un medio de defoliación, en el que el calendario del tratamiento se basa en el contenido de humedad de la semilla, estando el % de humedad de la semilla entre el 35 % y el 70 % en el momento del tratamiento.
13. El método de la reivindicación 12, en el que se reduce el descarte de semilla de gran tamaño y/o semilla de pequeño tamaño.

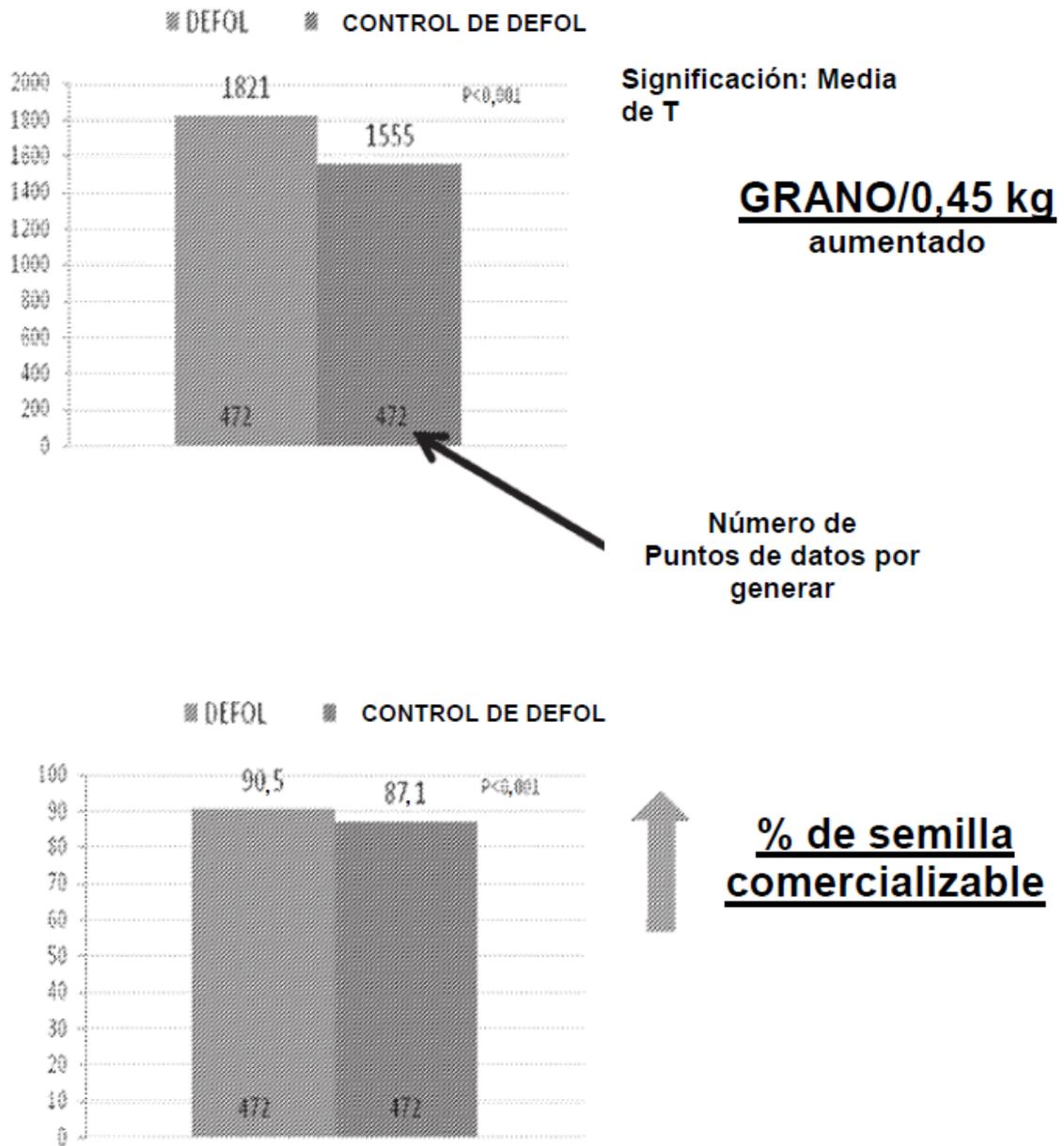


FIGURA 1

DESCARTE

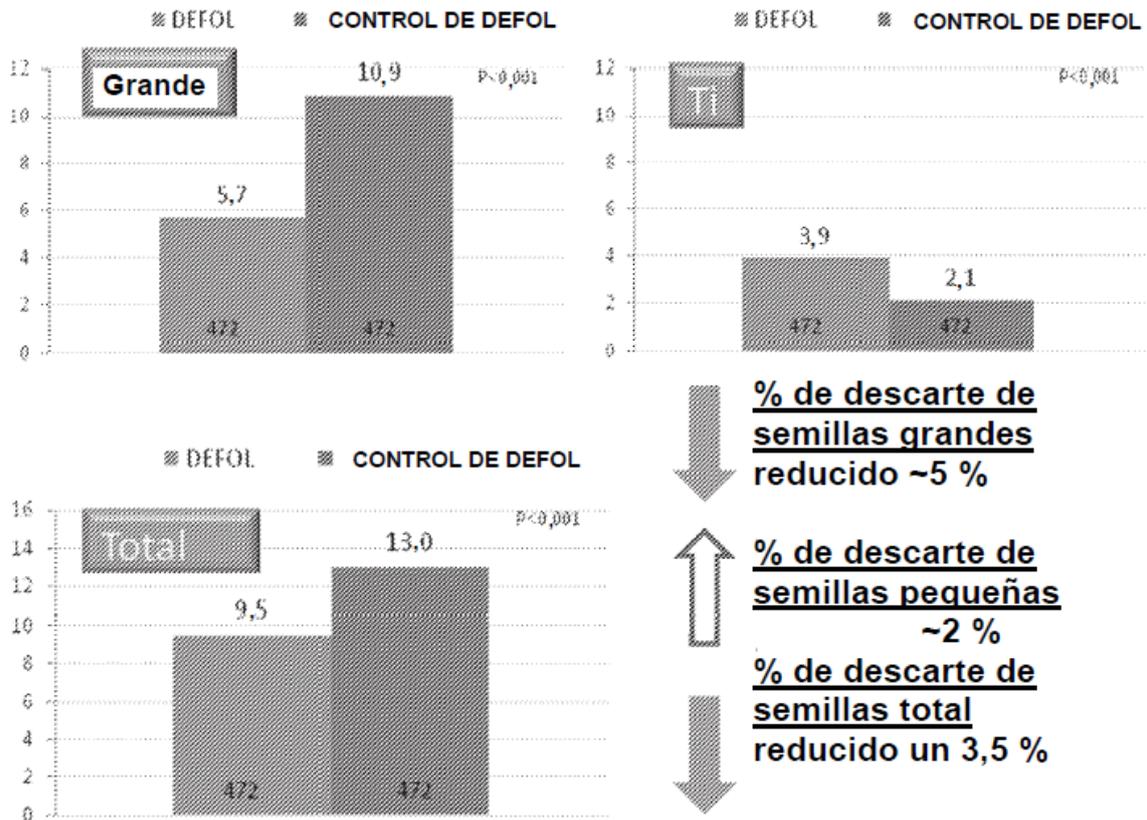


FIGURA 2

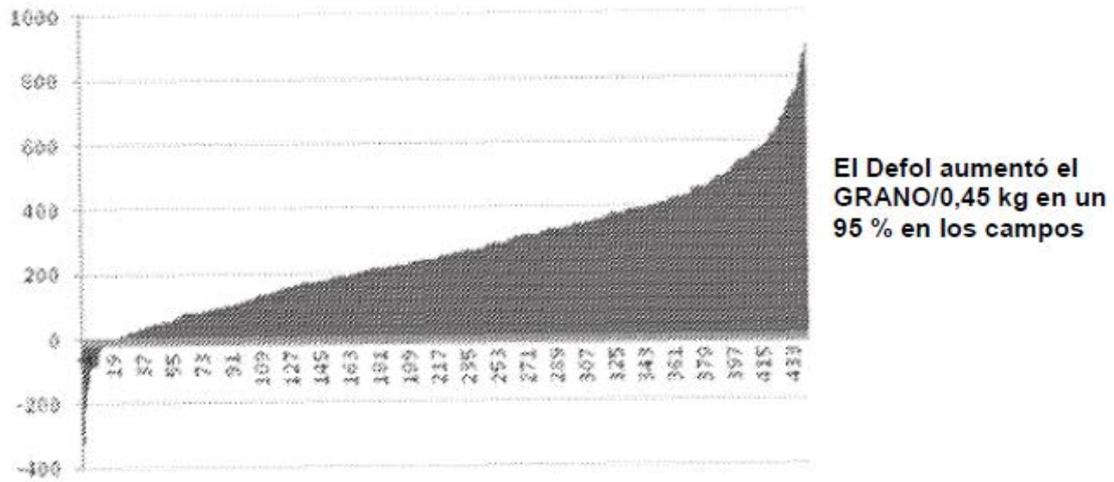


FIGURA 3

Estimación del GRANO/0,45 kg

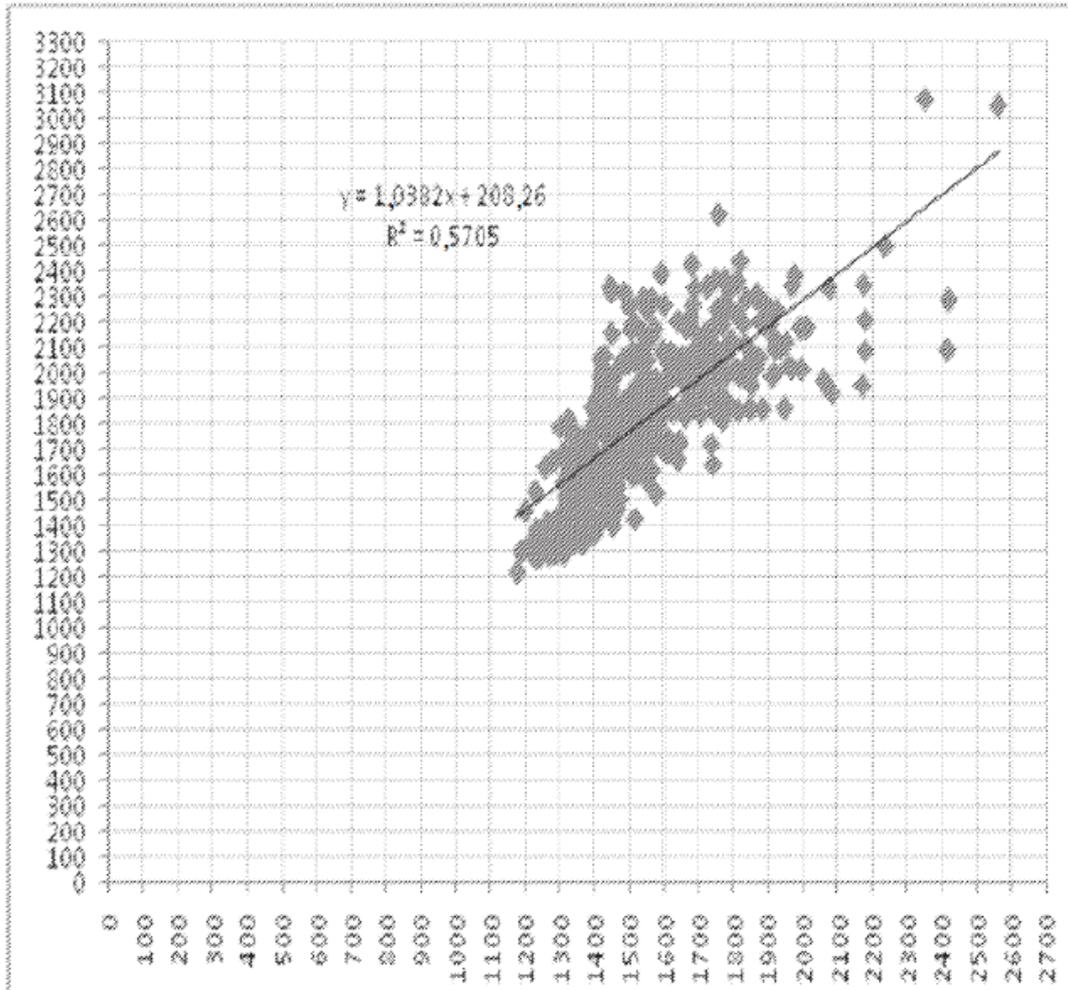


FIGURA 4

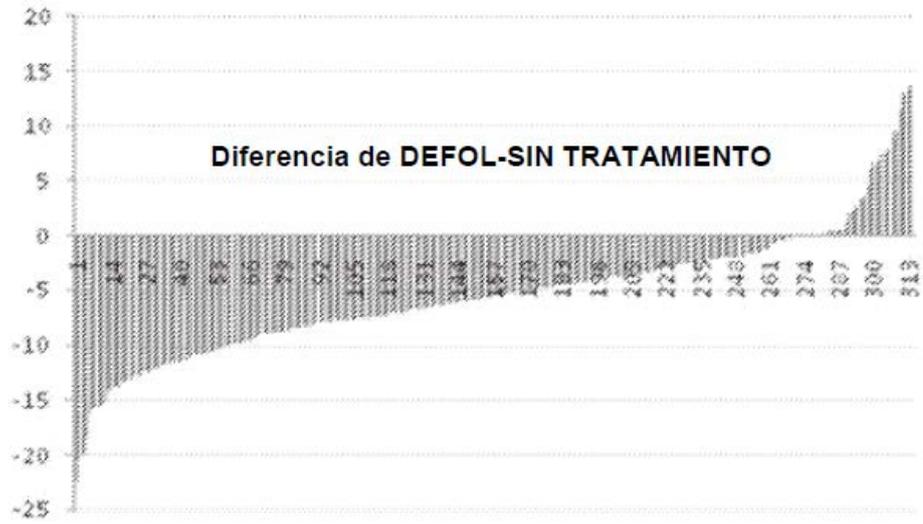


FIGURA 5

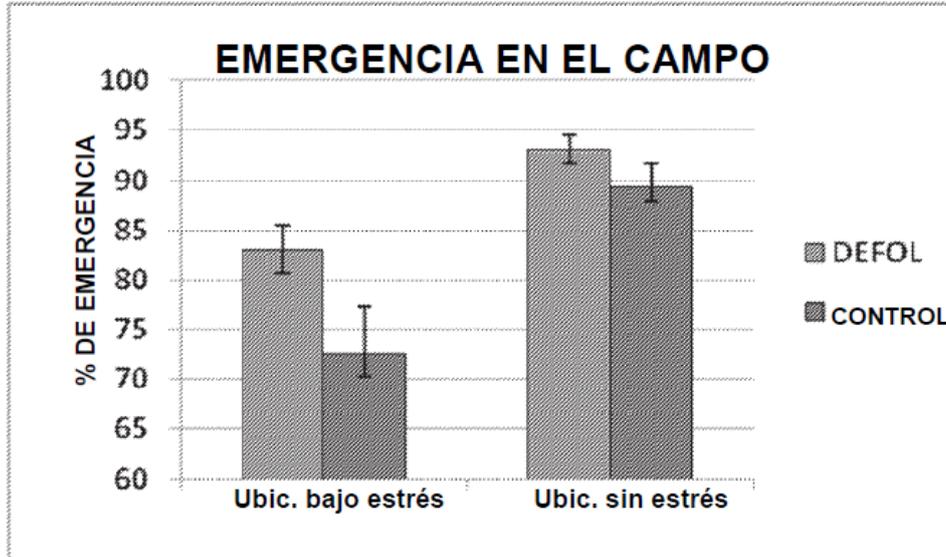


FIGURA 6

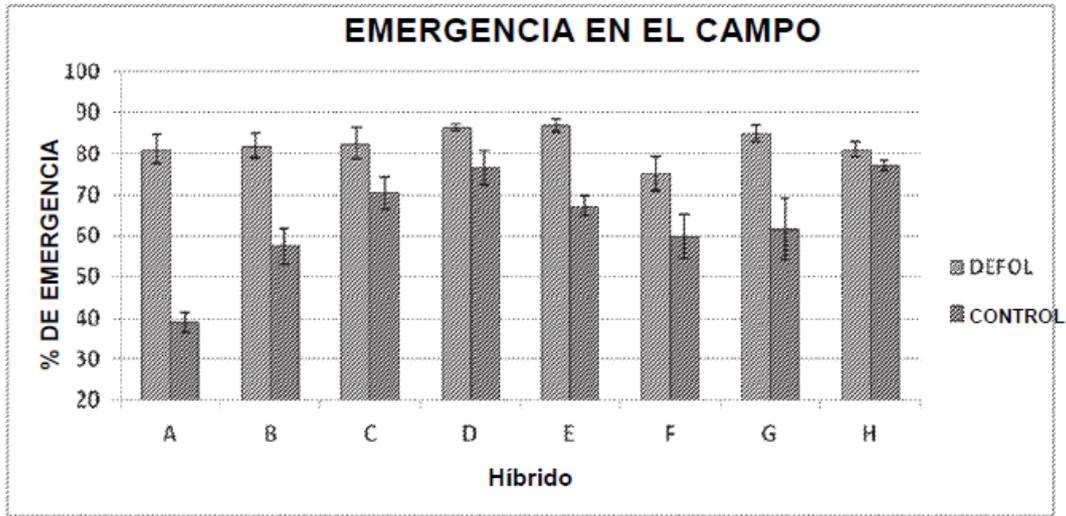


FIGURA 7

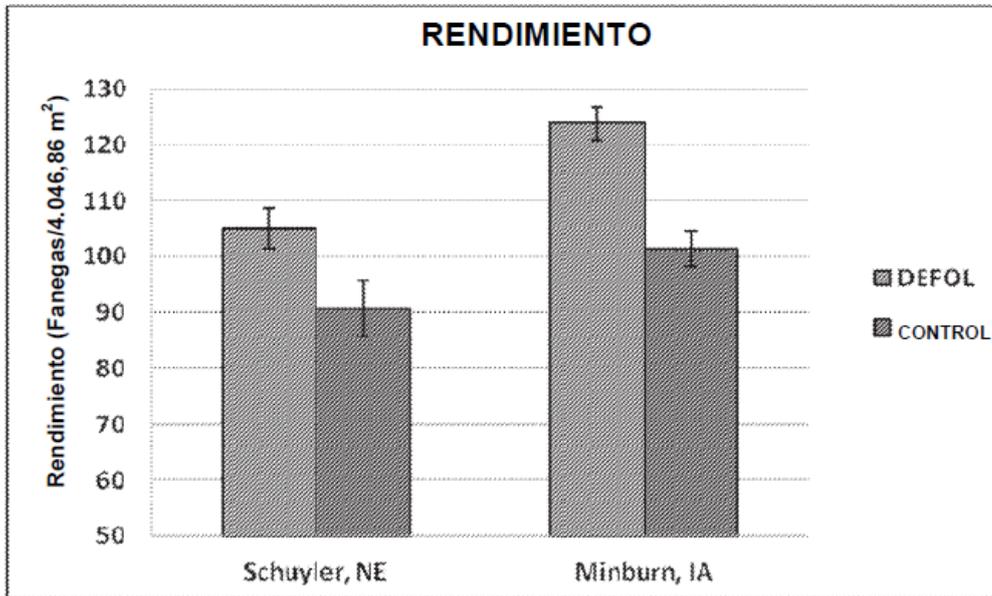


FIGURA 8