

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 635 115**

51 Int. Cl.:

C12N 15/82 (2006.01)

C12N 15/113 (2010.01)

A01H 5/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.01.2013** **PCT/US2013/022654**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.08.2013** **WO13112523**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.01.2013** **E 13703941 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.04.2017** **EP 2807258**

54 Título: **Regulación por disminución de expresión génica utilizando micro ARN artificiales para silenciar genes biosintéticos de ácidos grasos**

30 Prioridad:

23.01.2012 US 201261589682 P

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

02.10.2017

73 Titular/es:

**E. I. DU PONT DE NEMOURS AND COMPANY
(100.0%)
Chestnut Run Plaza, 974 Center Road, P.O. Box
2915
Wilmington, DE 19805, US**

72 Inventor/es:

**DAMUDE, HOWARD GLENN y
MCGONIGLE, BRIAN**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 635 115 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

Regulación por disminución de expresión génica utilizando micro ARN artificiales para silenciar genes biosintéticos de ácidos grasos

5 La presente solicitud reivindica el beneficio de la solicitud de patente estadounidense n.º 61/589682, presentada el 23 de enero de 2012.

Campo de la invención

El campo de la presente invención se refiere, generalmente, a biología molecular de plantas. En particular, se refiere a construcciones y métodos para regular por disminución la expresión de genes biosintéticos de ácidos grasos.

Antecedentes

10 Los microARN (miARN) se identificaron por primera vez hace apenas unos años, pero ya es claro que juegan un papel importante para regular la actividad génica. Estos 20-22 ARN no codificantes de nucleótidos tienen la capacidad de hibridarse mediante apareamiento de bases con ARNm objetivos específicos y regular por disminución la expresión de estas transcripciones, al mediar la escisión de ARN o represión traduccional.

15 Estudios recientes han indicado que los miARN tienen funciones importantes durante el desarrollo. En las plantas, han demostrado que controlan una variedad de procesos de desarrollo que incluyen el tiempo de florecimiento, morfología de la hoja, polaridad de órgano, morfología floral y desarrollo de la raíz (revisado por Mallory y Vaucheret (2006) Nat Genet 38: S31-36). Dado el papel regulador establecido de los miARN, es probable que también estén involucrados en el control de algunas de las principales características de los cultivos tal como la tolerancia a la sequía y resistencia a las enfermedades.

20 Los miARN son transcritos por ARN polimerasa II como mensajes poliadenilados y bloqueados terminalmente conocidos como pri-miARN. Estos pri-miARN se procesan en transcripciones más pequeñas conocidas como pre-miARN y estos precursores tienen la capacidad de formar estructuras horquilla estables (revisado por Bartel (2004) Cell 116: 281-297; Jones-Rhoades MW, Bartel DP, Bartel B. MicroARN y sus papeles reguladores en las plantas. Annu Rev Plant Biol. 2006;57:19-53.) Mientras que los pri-miARN son procesados en pre-miARN por Drosha en el núcleo y Dicer escinde los pre-miARN en el citoplasma en metazoanos, la maduración de miARN en plantas difiere de la vía en animales ya que a las plantas les falta un homólogo de Drosha. En vez, la enzimas RNasa III DICER-LIKE 1 (DCL1), que es homóloga al animal Dicer, puede poseer la función Drosha además de su función conocida en el procesamiento de horquilla (Kurihara y Watanabe (2004) Proc Natl Acad Sci 101: 12753-12758).

30 Los microARN artificiales (amiARN) recientemente se han descrito en Arabidopsis dirigida a secuencias de ARNm viral (Niu et ál. (2006) Nature Biotechnology 24:1420-1428) o genes endógenos (Schwab et ál. (2006) Plant Cell 18:1121-1133). La construcción de amiARN se puede expresar con diferentes promotores para cambiar el patrón espacial de silenciamiento (Schwab et ál. (2006) Plant Cell 18:1121-1133). Los miARN artificiales reemplazan el microARN y su secuencia star complementaria en un miARN precursor y las secuencias sustitutas que se dirigen a un ARNm para ser silenciadas. Se puede encontrar el silenciamiento por miARN endógenos en una variedad de patrones de expresión espacial, temporal y de desarrollo (Parizotto et ál. (2007) Genes Dev 18:2237-2242; Alvarez et ál. (2006) Plant Cell 18:1134-51). Se puede construir miARN artificial para capturar y extender la diversidad y especificidad en los patrones de silenciamiento. Previamente, se han utilizado soluciones para regular por disminución genes biosintéticos de ácidos grasos específicos para utilizar enfoques de ARNi clásicos, tal como estructuras horquilla o de supresión conjunta. Estos enfoques incluyeron poca frecuencia de silenciamiento (particularmente con estrategias de supresión conjunta) y silenciamiento no específico de otros genes similares. La tecnología amiARN puede estar diseñada para ser muy específica respecto al gen de interés y las frecuencias de silenciamiento se encuentran a la par de las estructuras de ARNi (horquilla).

WO 2004/009779 publicado el 29 de enero de 2004 describe composiciones y métodos para modular la expresión génica en las plantas.

45 La publicación de solicitud de patente estadounidense 2005/0138689 del cesionario del solicitante publicada el 23 de junio de 2005 describe los miARN y su uso para silenciar una secuencia objetivo.

Breve descripción del listado de secuencias

La invención se entenderá mejor a partir de la siguiente descripción detallada y el listado de secuencias adjunto, que forman parte de la presente solicitud.

50 Las descripciones de secuencia resumen el Listado de secuencias adjunto a la presente. El Listado de secuencias contiene códigos de una letra para los caracteres de secuencia de nucleótidos y códigos únicos y de tres letras para los aminoácidos tal como se define en los estándares IUPAC-IUB descritos en Nucleic Acids Research 13:3021-3030 (1985) y en el Biochemical Journal 219(2):345-373 (1984).

La SEQ ID NO:1 corresponde a la secuencia de nucleótidos del gen biosintético de ácido graso de soja

Glyma10g42470 dirigido para silenciamiento.

La SEQ ID NO:2 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO:1.

La SEQ ID NO:3 corresponde a la secuencia de nucleótidos del gen biosintético de ácido graso de soja Glyma20g24530 dirigido para silenciamiento.

5 La SEQ ID NO:4 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO:3.

La SEQ ID NO:5 corresponde a la secuencia de nucleótidos del gen biosintético de ácido graso de soja Glyma19g32940 dirigido para silenciamiento.

La SEQ ID NO:6 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO:5.

10 La SEQ ID NO:7 corresponde a la secuencia de nucleótidos del gen biosintético de ácido graso de soja Glyma02g15600 dirigido para silenciamiento.

La SEQ ID NO:8 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO:7.

La SEQ ID NO:9 corresponde a la secuencia de nucleótidos del gen biosintético de ácido graso de soja Glyma07g32850 dirigido para silenciamiento.

La SEQ ID NO:10 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO:9.

15 La SEQ ID NO: 11 corresponde a la secuencia de nucleótidos del gen biosintético de ácido graso de soja Glyma14g37350 dirigido para silenciamiento.

La SEQ ID NO:12 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO:11.

La SEQ ID NO:13 corresponde a la secuencia de nucleótidos del gen biosintético de ácido graso de soja Glyma02g39230 dirigido para silenciamiento.

20 La SEQ ID NO:14 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO:13.

La SEQ ID NO:15 corresponde a la secuencia de nucleótidos del gen biosintético de ácido graso de soja Glyma18g06950 dirigido para silenciamiento.

La SEQ ID NO:16 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO:15.

25 La SEQ ID NO:17 corresponde a la secuencia de nucleótidos del gen biosintético de ácido graso de soja Glyma05g08060 dirigido para silenciamiento.

La SEQ ID NO:18 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO:17.

La SEQ ID NO:19 corresponde a la secuencia de nucleótidos del gen biosintético de ácido graso de soja Glyma17g12940 dirigido para silenciamiento.

La SEQ ID NO:20 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO:19.

30 Las SEQ ID NO:21-25 corresponden a la secuencia miARN artificial (amiARN) utilizada para silenciar la soja fad 2-1 b, fad2-2, sad3, fad3 y fatB, respectivamente.

Las SEQ ID NO:26-31 corresponden a las "secuencias star" contenidas dentro de los precursores de amiARN para 159fad2-1 b, 396b-fad2-1 b, 159-fad2-2, 396b-sad3, 159-fad3c, 159-fatbf, respectivamente. Las secuencias Star son las secuencias en gran medida complementarias dentro del precursor de miARN que forman un dúplex con el miARN.

35

La SEQ ID NO:32 corresponde a la secuencia de nucleótidos del vector PHP32511.

La SEQ ID NO:33 corresponde a la secuencia de nucleótidos del vector PHP32510.

La SEQ ID NO:34 corresponde a la secuencia de nucleótidos del vector PHP32843.

La SEQ ID NO:35 corresponde a la secuencia de nucleótidos del vector PHP33705.

40 La SEQ ID NO:36 corresponde a la secuencia de nucleótidos del vector PHP38557.

La SEQ ID NO:37 corresponde a la secuencia de nucleótidos del vector PHP41103.

La SEQ ID NO:38 corresponde a la secuencia de nucleótidos del vector pKR1756.

- La SEQ ID NO:39 corresponde a la secuencia de nucleótidos del vector pKR1757.
- La SEQ ID NO:40 corresponde a la secuencia de nucleótidos del vector pKR1766.
- La SEQ ID NO:41 corresponde a la secuencia de nucleótidos del vector pKR1771.
- La SEQ ID NO:42 corresponde a la secuencia de nucleótidos del vector PHP41784.
- 5 La SEQ ID NO:43 corresponde a la secuencia de nucleótidos del vector pKR1776.
- La SEQ ID NO:44 corresponde a la secuencia de nucleótidos del gen biosintético de ácido graso de Arabidopsis fad2, At3g12120.
- La SEQ ID NO:45 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO:44.
- 10 La SEQ ID NO:46 corresponde a la secuencia de nucleótidos del gen biosintético de ácido graso de Arabidopsis fad3, At2g29980.
- La SEQ ID NO:47 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO:46.
- La SEQ ID NO:48 corresponde a la secuencia de nucleótidos del gen biosintético de ácido graso de Arabidopsis fael, At4g34520.
- La SEQ ID NO:49 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO:48.
- 15 La SEQ ID NO:50 corresponde a la secuencia de nucleótidos del gen biosintético de ácido graso de Brassica napus FJ907397.
- La SEQ ID NO:51 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO:50.
- La SEQ ID NO:52 corresponde a la secuencia de nucleótidos del gen biosintético de ácido graso de Brassica napus FJ907398.
- 20 La SEQ ID NO:53 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO:52.
- La SEQ ID NO:54 corresponde a la secuencia de nucleótidos del gen biosintético de ácido graso de Brassica napus FJ907399.
- La SEQ ID NO:55 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO:54.
- 25 La SEQ ID NO:56 corresponde a la secuencia de nucleótidos del gen biosintético de ácido graso de Brassica napus FJ907400.
- La SEQ ID NO:57 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO:56.
- La SEQ ID NO:58 corresponde a la secuencia de nucleótidos del gen biosintético de ácido graso de Brassica napus FJ907401.
- La SEQ ID NO:59 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO:58.
- 30 La SEQ ID NO:60 corresponde a la secuencia de nucleótidos del gen biosintético de ácido graso de Brassica napus L01418.
- La SEQ ID NO:61 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO:60.
- La SEQ ID NO:62 corresponde a la secuencia de nucleótidos del gen biosintético de ácido graso de Brassica napus AY599884.
- 35 La SEQ ID NO:63 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO:62.
- La SEQ ID NO:64 corresponde a la secuencia de nucleótidos del gen biosintético de ácido graso de Brassica napus L22962.
- La SEQ ID NO:65 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO:64.
- 40 La SEQ ID NO:66 corresponde a la secuencia de nucleótidos del gen biosintético de ácido graso de Brassica napus AF274750.
- La SEQ ID NO:67 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO:66.
- La SEQ ID NO:68 corresponde a la secuencia de nucleótidos del gen biosintético de ácido graso de Brassica napus

AY888043.

La SEQ ID NO:69 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO:68.

La SEQ ID NO:70 corresponde a la secuencia de nucleótidos del gen biosintético de ácido graso de Brassica napus AF009563.

5 La SEQ ID NO:71 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO:70.

La SEQ ID NO:72 corresponde a la secuencia de nucleótidos del gen biosintético de ácido graso de Brassica napus GU325719.

La SEQ ID NO:73 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO:72.

10 La SEQ ID NO:74 corresponde a la secuencia de nucleótidos del gen biosintético de ácido graso de Brassica napus AF490462.

La SEQ ID NO:75 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO:74.

La SEQ ID NO:76 corresponde a la secuencia de nucleótidos del gen biosintético de ácido graso de Brassica napus AF490459.

La SEQ ID NO:77 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO:76.

15 La SEQ ID NO:78 corresponde a la secuencia de nucleótidos del gen biosintético de ácido graso de Brassica napus BNU50771.

La SEQ ID NO:79 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO:78.

La SEQ ID NO:80 corresponde al amiARN fad2a.

La SEQ ID NO:81 corresponde a la secuencia Star fad2a 159.

20 La SEQ ID NO:82 corresponde a la secuencia Star fad2a 396b.

La SEQ ID NO:83 corresponde al amiARN fad2b 159.

La SEQ ID NO:84 corresponde a la secuencia Star fad2b 159.

La SEQ ID NO:85 corresponde a la secuencia Star fad2b 396b.

La SEQ ID NO:86 corresponde al amiARN fad2c.

25 La SEQ ID NO:87 corresponde a la secuencia Star fad2c 159.

La SEQ ID NO:88 corresponde a la secuencia Star fad2c 396b.

La SEQ ID NO:89 corresponde al amiARN fad3a.

La SEQ ID NO:90 corresponde a la secuencia Star fad3a 159.

La SEQ ID NO:91 corresponde a la secuencia Star fad3a 396b.

30 La SEQ ID NO:92 corresponde al amiARN fad3b.

La SEQ ID NO:93 corresponde a la secuencia Star fad3b 159.

La SEQ ID NO:94 corresponde a la secuencia Star fad3b 396b.

La SEQ ID NO:95 corresponde al amiARN faela.

La SEQ ID NO:96 corresponde a la secuencia Star faela 159.

35 La SEQ ID NO:97 corresponde a la secuencia Star faela 396b.

La SEQ ID NO:98 corresponde al amiARN faelb.

La SEQ ID NO:99 corresponde a la secuencia Star faelb 159.

La SEQ ID NO:100 corresponde a la secuencia Star faelb 396b.

La SEQ ID NO:101 corresponde al amiARN faelc.

- La SEQ ID NO:102 corresponde a la secuencia Star faelc 159.
- La SEQ ID NO:103 corresponde a la secuencia Star faelc 396b.
- La SEQ ID NO:104 corresponde a la secuencia de nucleótidos del plásmido GM-159- KS332.
- La SEQ ID NO:105 corresponde a la secuencia de nucleótidos del plásmido GM-396b-KS332.
- 5 La SEQ ID NO:106 corresponde a la secuencia de nucleótidos del plásmido pKR2007.
- La SEQ ID NO:107 corresponde a la secuencia de nucleótidos del plásmido pKR2009.
- La SEQ ID NO:108 corresponde a la secuencia de nucleótidos del plásmido pKR2032.
- La SEQ ID NO:109 corresponde a la secuencia de nucleótidos del plásmido pKR2033.
- La SEQ ID NO: 110 corresponde a la secuencia de nucleótidos del plásmido pKR2034.
- 10 La SEQ ID NO: 111 corresponde a la secuencia de nucleótidos del plásmido pKR2037.
- La SEQ ID NO: 112 corresponde a la secuencia de nucleótidos del plásmido pKR2038.
- La SEQ ID NO:113 corresponde a la secuencia de nucleótidos del plásmido pKR2039.
- La SEQ ID NO:114 corresponde a la secuencia de nucleótidos del plásmido pKR2035.
- La SEQ ID NO:115 corresponde a la secuencia de nucleótidos del plásmido pKR2036.
- 15 La SEQ ID NO:116 corresponde a la secuencia de nucleótidos del plásmido pKR2040.
- La SEQ ID NO:117 corresponde a la secuencia de nucleótidos del plásmido pKR2041.
- La SEQ ID NO:118 corresponde a la secuencia de nucleótidos del plásmido pKR2076.
- La SEQ ID NO:119 corresponde a la secuencia de nucleótidos del plásmido pKR2077.
- La SEQ ID NO:120 corresponde a la secuencia de nucleótidos del plásmido pKR2078.
- 20 La SEQ ID NO:121 corresponde a la secuencia de nucleótidos del plásmido pKR2079.
- La SEQ ID NO:122 corresponde a la secuencia de nucleótidos del plásmido pKR2081.
- La SEQ ID NO:123 corresponde a la secuencia de nucleótidos del plásmido pKR2080.
- La SEQ ID NO:124 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de amiARN 159-fad2-1b.
- La SEQ ID NO:125 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de amiARN 396b-fad2-1 b.
- 25 La SEQ ID NO:126 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de amiARN 159-fad2-2.
- La SEQ ID NO:127 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de amiARN 396b-fad2-1 b y 159-fad2-2.
- La SEQ ID NO:128 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de amiARN 396b-sad3.
- La SEQ ID NO:129 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de amiARN 396b-fad2-1 b/396b-sad3.
- La SEQ ID NO:130 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de amiARN 159-fad3c.
- 30 La SEQ ID NO:131 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de amiARN 159-fatBF.
- La SEQ ID NO:132 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de amiARN 159-fad3c/159-fatBF.
- La SEQ ID NO:133 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de amiARN 159-fatBF/159-fad3c.
- La SEQ ID NO:134 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de amiARN 159-fad2-1 b/159-fatBF/159-fad3c.
- 35 La SEQ ID NO:135 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de amiARN 396b-fad2-1 b/159-fatB/159-fad3c.
- La SEQ ID NO:136 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de amiARN 159-Atfad2a.

- La SEQ ID NO:137 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de amiARN 159-Atfad2b.
- La SEQ ID NO:138 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de amiARN 159-Atfad2c.
- La SEQ ID NO:139 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de amiARN 396b-Atfad2a.
- La SEQ ID NO:140 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de amiARN 396b-Atfad2b.
- 5 La SEQ ID NO:141 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de amiARN 396b-Atfad2c.
- La SEQ ID NO:142 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de amiARN 159-Atfad3a.
- La SEQ ID NO:143 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de amiARN 159-Atfad3b.
- La SEQ ID NO:144 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de amiARN 396b-Atfad3a.
- La SEQ ID NO:145 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de amiARN 396b-Atfad3b.
- 10 La SEQ ID NO:146 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de amiARN 159-Atfaela.
- La SEQ ID NO:147 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de amiARN 59-Atfaelb.
- La SEQ ID NO:148 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de amiARN 159-Atfaelc.
- La SEQ ID NO:149 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de amiARN 396b-Atfaela.
- La SEQ ID NO:150 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de amiARN 396b-Atfaelb.
- 15 La SEQ ID NO:151 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de amiARN 396b-Atfaelc.
- La SEQ ID NO:152 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de miARN genómico de soja 159.
- La SEQ ID NO:153 corresponde a la secuencia de nucleótidos del precursor de miARN genómico de soja 396b..
- La SEQ ID NO:154 corresponde a la secuencia de nucleótidos del amiARN 159-fad2a/396b-fad3b.
- La SEQ ID NO:155 corresponde a la secuencia de nucleótidos del plásmido pKR2232.
- 20 La SEQ ID NO:156 corresponde a la secuencia de nucleótidos del amiARN 159-fad2b/396b-fad3b.
- La SEQ ID NO:157 corresponde a la secuencia de nucleótidos del plásmido pKR2233.
- La SEQ ID NO:158 corresponde a la secuencia de nucleótidos del amiARN 396b-fad3b/159-fad2a.
- La SEQ ID NO:159 corresponde a la secuencia de nucleótidos del plásmido pKR2234.
- La SEQ ID NO:160 corresponde a la secuencia de nucleótidos del amiARN 396b-fad3b/159-fad2b.
- 25 La SEQ ID NO:161 corresponde a la secuencia de nucleótidos del plásmido pKR2235.
- La SEQ ID NO:162 corresponde a la secuencia de nucleótidos del amiARN 159-fad2a/396b-fad3b/159-fae1.
- La SEQ ID NO:163 corresponde a la secuencia de nucleótidos del plásmido pKR2248.
- La SEQ ID NO:164 corresponde a la secuencia de nucleótidos del amiARN 396b-fad3b/159-fad2a/159-fae1a.
- 30 La SEQ ID NO:165 corresponde a la secuencia de nucleótidos del amiARN del plásmido 396b-fad3b/159-fad2a/159-fae1a.
- La SEQ ID NO:166 corresponde a la secuencia de nucleótidos del amiARN 159-fad2b/396b-fad3b/159-fae1a .
- La SEQ ID NO:167 corresponde a la secuencia de nucleótidos del plásmido pKR2250.
- La SEQ ID NO:168 corresponde a la secuencia de nucleótidos del amiARN 396b-fad3b/159-fad2b/159-fae1a.
- La SEQ ID NO:169 corresponde al plásmido pKR2251.
- 35 La SEQ ID NO:170 corresponde al plásmido pKR2333.
- La SEQ ID NO:171 corresponde al plásmido pKR2334.
- La SEQ ID NO:172 corresponde al plásmido pKR2335.

La SEQ ID NO:173 corresponde al plásmido pKR2336.

La SEQ ID NO:174 corresponde a la secuencia de nucleótidos fad 2 de *Brassica carinata*.

La SEQ ID NO:175 corresponde a la secuencia de aminoácidos codificada por la SEQ ID NO: 174.

Compendio de la invención

5 La presente invención se refiere a un fragmento de ácido nucleico aislado que comprende una secuencia, al menos un precursor de microARN artificial, unido de forma operativa a al menos una secuencia reguladora, donde dicha secuencia que codifica al menos un precursor de microARN artificial es capaz de formar un ARN de doble cadena u horquilla, donde el al menos un precursor de amiARN comprende al menos un precursor de miARN modificado en el que la secuencia de miARN y su secuencia complementaria son reemplazados por al menos una secuencia de
10 amiARN y al menos una secuencia STAR, donde la expresión de al menos el gen biosintético de ácido graso de planta fad3 está inhibido y el precursor de microARN artificial comprende una secuencia de nucleótidos según se establece en la SEQ ID NO:130.

En un aspecto preferido, la secuencia de ácido nucleico aislado comprende una secuencia que codifica dos o más
15 precursores de microARN artificial, unidos de forma operativa a dicha al menos una secuencia reguladora, donde dichos dos o más precursores de microARN artificial pueden estar en las mismas unidades transcripcionales o separadas, más donde dichas secuencias que codifican dos o más precursores de microARN artificial son capaces de formar un ARN de doble cadena u horquilla, donde los dos o más precursores de amiARN comprenden uno o más precursores de miARN modificado en el que la o las secuencias de miARN y su secuencia o secuencias complementarias son reemplazadas por dos o más secuencias de amiARN y dos o más secuencias STAR, y
20 además donde la expresión de al menos dos o más genes biosintéticos de ácido graso vegetal seleccionados del grupo que consiste en: fad2-1, fad2-2, fad3, fatB, sad, y fael están inhibidos, y al menos fad3 está inhibido.

Otra realización de la presente invención se refiere a una secuencia de ácido nucleico aislado tal como se define anteriormente donde dicha secuencia precursora de microARN artificial para dicho fad2-1, fad2-2, fatB, sad o fael es al menos uno que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID NO: 124, 125, 126, 127, 128, 129, 131, 136, 137,
25 138, 139, 140, 141, 146, 147, 148, 149, 150 y 151.

Una realización adicional de la presente invención se refiere a construcciones recombinantes que comprenden la secuencia de ácido nucleico aislado de la invención unida de forma operativa a al menos una secuencia reguladora.

Otra realización de la presente invención incluye un método para reducir la expresión de dos o más genes biosintéticos de ácido graso vegetal, donde dicho método comprende:

30 (a) transformar una célula de planta con al menos una secuencia de ácido nucleico aislado que comprende una secuencia que codifica dos o más precursores de microARN artificial, donde dichos dos o más precursores de microARN artificial pueden estar en las mismas unidades transcripcionales o separadas, unidos de forma operativa a al menos una secuencia reguladora donde al menos un precursor de microARN artificial comprende una secuencia de nucleótidos tal como se establece en la SEQ ID NO: 130;

35 (b) dicha al menos una secuencia que codifica dos o más precursores de microARN artificial se transcribe para que se produzca al menos un producto de transcripción que comprende dichos dos o más precursores de miARN artificial;

(c) dicho al menos un producto de transcripción se procesa para que al menos dos o más miARN de alrededor de 21 a 22 nts de longitud se escindan de dichos precursores de miARN artificial, y

40 (d) la expresión de dos o más genes biosintéticos de ácido graso vegetal que se selecciona del grupo que consiste en: fad2-1, fad2-2, fad3, fatB, sad y fael está reducida, y al menos la expresión de fad3 está reducida.

Las construcciones recombinantes y las células de plantas que comprenden la construcción recombinante de la invención también están incluidas. Las células de plantas dicotiledóneas que comprenden las construcciones recombinantes de la invención son realizaciones adicionales.

45 En otro aspecto, la presente invención se refiere a un método para reducir la expresión de al menos un gen biosintético de ácido graso vegetal, donde dicho método comprende:

(a) transformar una célula de planta con al menos una secuencia de ácido nucleico aislado que comprende una secuencia que codifica al menos un precursor de microARN artificial, unido de forma operativa a al menos una secuencia reguladora donde el al menos un precursor de microARN artificial comprende una secuencia de
50 nucleótidos tal como se establece en la SEQ ID NO:130;

(b) dicha al menos una secuencia que codifica dos o más precursores de microARN artificial se transcribe para que se produzca al menos un producto de transcripción que comprende dichos dos o más precursores de miARN artificial;

(c) dicho producto de transcripción se procesa para que al menos un miARN maduro de alrededor de 21 a 22 nts de longitud se escinda de dicho precursor de miARN artificial, y

(d) la expresión de al menos el gen biosintético de ácido graso vegetal *fad3* está reducida.

5 En aun otra realización, la presente invención incluye cualquiera de las secuencias de ácido nucleico aislado de la presente invención, donde la o las secuencias de amiARN comprendidas en dicho precursor de miARN artificial, que comprende una secuencia de nucleótidos tal como se establece en la SEQ ID NO:130, comprende la SEQ ID NO:24 y/o la o las secuencias de amiARN comprendidas en un precursor artificial para *fad2-1*, *fad2-2*, *fatB*, *sad* y *fael* comprenden al menos uno que se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 21, 22, 23, 25, 80, 83, 86, 95, 98 y 101.

10 La semilla o plantas transgénicas que comprenden estos amiARN también son parte de la invención y los métodos de acuerdo con la invención que utilizan estos amiARN también están comprendidos por la presente invención.

Descripción detallada

La información pertinente a la presente solicitud se puede encontrar en la solicitud de patente estadounidense n.º US 2005/0120415 y US 2005/0138689, presentadas el 12 de octubre de 2004.

15 La publicación de solicitud de patente estadounidense del cesionario del solicitante 2009/0155910 A1 publicada el 18 de junio de 2009 describe la regulación por disminución de la expresión génica utilizando miARN artificiales.

Otras referencias que pueden ser útiles para entender la invención incluyen la solicitud de patente estadounidense US 2005/0075492, presentada el 6 de agosto de 2004; y la solicitud de patente estadounidense US 2006/0174380, presentada el 6 de enero de 2006.

20 Tal como se usa en la presente y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un/una" y "el/la", incluyen referencias plurales salvo que el contexto indique claramente lo contrario. Por lo tanto, por ejemplo, la referencia a "una planta" incluye múltiples plantas, la referencia a "la célula" incluye una o más células y equivalentes de estas conocidas por los expertos en la técnica, y así sucesivamente.

25 En el contexto de esta divulgación, se utilizan una cantidad de términos y abreviaturas. Se proporcionan las siguientes definiciones.

"microARN o miARN" se refiere a ácido oligorribonucleico, que regula la expresión de un polinucleótido que comprende la secuencia objetivo. Los microARN (miARN) son ARN no codificantes de alrededor de 19 a alrededor de 24 nucleótidos (nt) de longitud que han sido identificados en animales y plantas (Lagos-Quintana et ál., Science 294:853-858 2001; Lagos-Quintana et ál., Curr. Biol. 12:735-739 2002; Lau et ál., Science 294:858-862 2001; Lee y Ambros, Science 294:862-864 2001; Llave et ál., Plant Cell 14:1605-1619 2002; Mourelatos et ál., Genes. Dev. 16:720-728 2002; Park et ál., Curr. Biol. 12:1484-1495 2002; Reinhart et ál., Genes. Dev. 16:1616-1626 2002) que regula la expresión de un polinucleótido que comprende la secuencia objetivo. Se procesan de transcripciones precursoras más largas que varían en tamaño de aproximadamente 70 a 2000 nt o más largas, y estas transcripciones precursoras tienen la capacidad de formar estructuras horquilla estables. En los animales, la enzima implicada en el procesamiento de los precursores de miARN se llama Dicer, una proteína tipo ARNasa III (Grishok et ál., Cell 106:23-34 2001; Hutvagner et ál., Science 293:834-838 2001; Ketting et ál., Genes. Dev. 15:2654-2659 2001). Las plantas también tienen una enzima tipo Dicer, DCL1 (previamente llamada *CARPEL FACTORY/SHORT INTEGUMENTS1 / SUSPENSOR1*), y pruebas recientes indican que esta, como Dicer, está implicada en el procesamiento de los precursores horquilla para generar miARN maduros (Park et ál., Curr. Biol. 12:1484-1495 2002; Reinhart et ál., Genes. Dev. 16:1616-1626 2002). Además, recientes estudios han demostrado que al menos algunos precursores horquilla de miARN se originan como transcripciones poliadeniladas más largas, y varios miARN diferentes y horquillas asociadas pueden estar presentes en una sola transcripción (Lagos-Quintana et ál., Science 294:853-858 2001; Lee et ál., EMBO J 21:4663-4670 2002). Estudios recientes también han examinado la selección de la cadena de miARN del producto de ARNcd que surge del procesamiento de la horquilla por DICER (Schwartz et ál., 2003, Cell 115:199-208). Parece que la estabilidad (es decir, contenido de G:C vs. A:U y/o malapareamientos) de los dos extremos del ARNcd procesados afecta la selección de cadena con el extremo de estabilidad baja que es más fácil de ser desenrollado por una actividad helicasa. La cadena de extremo 5' en el extremo de baja estabilidad se incorpora en el complejo RISC, mientras que la otra cadena se degrada.

50 Las "pri-miARN" o "miARN primaria" son ARN poliadeniladas largas transcritas por ARN polimerasa II que codifica miARN. Las "pre-miARN" son miARN primarias que han sido procesadas para formar una secuencia más corta que tiene la capacidad de formar una horquilla estable y está procesada adicionalmente para liberar un miARN. En las plantas, ambas etapas de procesamiento son llevadas a cabo por proteínas de tipo dicer y es por lo tanto difícil de diferenciar funcionalmente entre "pri-miARN" y "pre-miARN". Por lo tanto, un miARN precursor, o un miARN primario, se define funcionalmente en la presente como una secuencia de nucleótidos que es capaz de producir un miARN. Dada esta definición funcional, y como lo aclararán los Ejemplos y el análisis en la presente, un miARN precursor, miARN primario y/o un miARN tal como se describe en la presente pueden estar representados como un ácido ribonucleico o, de manera alternativa, en una forma de ácido desoxirribonucleico que "corresponde

sustancialmente" con el miARN precursor, miARN primario y/o miARN. Se entiende que el ADN en su forma de cadena doble comprenderá una cadena capaz de ser transcrita en el precursor de miARN descrito. Se describen las construcciones de expresión, construcciones de ADN recombinante y organismos transgénicos que incorporan el miARN que codifica el ADN que tiene como resultado la expresión de los precursores miARN descritos.

- 5 Una "subsecuencia de nucleótidos variable" se refiere a una parte de una secuencia de nucleótidos que reemplaza una parte de una secuencia pre-miARN siempre y cuando esta subsecuencia sea diferente de la secuencia que se está reemplazando, es decir, no puede ser la misma secuencia.

Un "gen objetivo" se refiere a un gen que codifica un ARN objetivo, es decir, un gen del que se transcribe un ARN objetivo. El gen puede codificar ARNm, ARNt, ARN pequeño, etc.

- 10 Una "secuencia objetivo" se refiere a un ARN cuya expresión se va a modular, por ejemplo, regular por disminución. La secuencia objetivo puede ser una parte de un marco de lectura abierto, región no traducida 5' o 3', exón o exones, intrón o intrones, región flanqueante, etc.

- 15 Una "secuencia star" es la secuencia complementaria dentro de un precursor de miARN que forma un dúplex con el miARN. La complementariedad de la secuencia star no necesita ser perfecta. A veces se encuentran sustituciones alterantes no helicoidales (es decir, pares de base G:T, etc.), así como 1-3 malapareamientos.

El término "genoma" se refiere a lo siguiente: (1) todo el complemento de material genético (genes y secuencias no codificantes) presentes en cada célula de un organismo, o virus u orgánulo; (2) un conjunto completo de cromosomas heredados como una unidad (haploide) de un padre.

- 20 La "progenie" comprende cualquier generación posterior de una planta. La progenie heredará, y segregará de forma estable, genes y transgenes de su planta o plantas padres.

- 25 Las unidades, los prefijos y los símbolos se pueden observar en su forma aceptada por SI. A menos que se indique lo contrario, los ácidos nucleicos se escriben de izquierda a derecha en orientación 5' a 3'; las secuencias de aminoácidos se escriben de izquierda a derecha en orientación amino a carboxilo, respectivamente. Los intervalos numéricos descritos dentro de la memoria descriptiva incluyen los números que definen el intervalo e incluyen cada número entero dentro del intervalo definido. Se puede hacer referencia a los aminoácidos en la presente ya sea por los símbolos de tres letras comúnmente conocidos o por sus símbolos de una letra recomendados por la *Biochemical Nomenclature Commission* [Comisión de Nomenclatura Bioquímica] IUPAC-IUB. De manera similar, se puede hacer referencia a los nucleótidos mediante sus códigos de letras individuales comúnmente aceptados. A menos que se proporcione de otro modo, se utilizan en la presente términos de software, eléctricos y electrónicos tal como se definen en The New IEEE Standard Dictionary of Electrical and Electronics Terms (5.^a edición, 1993). Los términos definidos a continuación se definen de manera completa con referencia a la memoria descriptiva en su totalidad.

- 35 Los términos "construcción recombinante", "construcción de expresión", "construcción quimérica", "construcción" y "construcción de ADN recombinante" se utilizan de forma intercambiable en la presente. Una construcción recombinante comprende una combinación artificial de fragmentos de ácido nucleico, por ejemplo, secuencias reguladoras y codificantes que no se encuentran juntas en la naturaleza. Por ejemplo una construcción quimérica puede comprender secuencias reguladoras y secuencias codificantes derivadas de diferentes fuentes o secuencias reguladoras y secuencias codificantes derivadas de la misma fuente, pero organizadas de manera diferente a la que se encuentran de forma natural. Se puede utilizar dicha construcción por sí misma o se puede utilizar junto con un vector. Si se utiliza un vector, entonces la elección de vector depende del método que se va a utilizar para transformar las células hospedadoras, tal como es conocido por los expertos en la técnica. Por ejemplo, se puede utilizar un vector plásmido. El experto en la técnica está al tanto de los elementos genéticos que deben estar presentes en el vector para transformar, seleccionar y propagar las células hospedadoras de forma exitosa, que comprende cualquiera de los fragmentos de ácido nucleico aislados descritos en la presente. El experto en la técnica también reconocerá que diferentes eventos de transformación independientes tendrán como resultado diferentes niveles y patrones de expresión (Jones et ál., EMBO J. 4:2411-2418 (1985); De Almeida et ál., Mol. Gen. Genetics 218:78-86 (1989)), y por lo tanto que múltiples eventos se deben analizar para obtener líneas que muestran el nivel y patrón de expresión deseados. Se puede lograr tal análisis mediante análisis Southern del ADN, análisis Northern de la expresión del ARNm, análisis de inmunotransferencia de la expresión de la proteína, o análisis fenotípicos, entre otros.

- 55 Esta construcción puede comprender cualquier combinación de desoxirribonucleótidos, ribonucleótidos y/o nucleótidos modificados. La construcción se puede transcribir para formar un ARN, donde el ARN puede ser capaz de formar un ARN de cadena doble y/o estructura horquilla. Esta construcción se puede expresar en la célula o aislar o producir sintéticamente. La construcción puede comprender además un promotor u otras secuencias que facilitan la manipulación o expresión de la construcción.

Tal como se usa en la presente, "supresión" o "silenciamiento" o "inhibición" se utilizan de manera intercambiable para indicar la regulación por disminución de la expresión de un producto de una secuencia objetivo relativa a su nivel de expresión normal en un organismo de tipo salvaje. La supresión incluye la expresión que es disminuida por

alrededor de 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, o 100% respecto al nivel de expresión de tipo salvaje.

Tal como se usa en la presente, "codifica" o "que codifica" se refiere a una secuencia de ADN que se puede procesar para generar un ARN y/o polipéptido.

- 5 Tal como se usa en la presente, "expresión" o "que expresa" se refiere a la producción de un producto funcional, tal como, la generación de un producto de transcripción de ARN de una construcción introducida, una secuencia de ADN endógeno, o una secuencia de ADN heteróloga incorporada de forma estable. El término también puede hacer referencia a un polipéptido producido a partir de un ARNm generado de cualquiera de los precursores de ADN anteriores. Por lo tanto, la expresión de un fragmento de ácido nucleico puede hacer referencia a la transcripción del
10 fragmento de ácido nucleico (por ejemplo, la transcripción que tiene como resultado ARNm u otro ARN funcional) y/o traducción de ARN en un precursor o proteína madura (polipéptido).

- 15 Tal como se utiliza en la presente, "heterólogo" con respecto a una secuencia significa una secuencia que se origina a partir de una especie desconocida o, si es de la misma especie, sustancialmente modificada de su forma nativa en la composición y/o locus genómico mediante intervención humana deliberada. Por ejemplo, con respecto a un ácido nucleico, puede ser un ácido nucleico que se origina de una especie desconocida, o se diseña sintéticamente, o, si es de la misma especie, se modifica sustancialmente de su forma nativa en composición y/o locus genómico mediante intervención humana deliberada. Una proteína heteróloga se puede originar de una especie desconocida o, si es de la misma especie, se modifica sustancialmente de su forma original por intervención humana deliberada.

- 20 El término "célula hospedadora" se refiere a una célula que contiene o en la que se introduce una construcción de ácido nucleico y apoya la replicación y/o expresión de la construcción. Las células hospedadoras pueden ser células procariotas tal como *E. coli*, o células eucariotas tal como hongos, levadura, insectos, anfibios, nemátodos o células mamíferas. De manera alternativa, las células hospedadoras son células de plantas monocotiledóneas o dicotiledóneas. Un ejemplo de una célula hospedadora monocotiledónea es una célula hospedadora de maíz.

- 25 "Planta" incluye la referencia a plantas enteras, órganos de plantas, tejidos de plantas, semillas y células de plantas y la progenie de estas. Las células de plantas incluyen, de modo no taxativo, células de semillas, cultivos de suspensión, embriones, regiones meristemáticas, tejidos de callos, hojas, raíces, brotes, gametofitos, esporofitos, polen y microesporas.

- 30 El término "partes de la planta" incluye tejidos diferenciados y no diferenciados que incluyen, de modo no taxativo, lo siguiente: raíces, tallos, brotes, hojas, polen, semillas, tejido de tumor y varias formas de células y cultivo (por ejemplo, células individuales, protoplastos, embriones y tejido de callo). El tejido vegetal puede encontrarse en la planta o en un órgano, tejido o cultivo celular vegetal.

El término "órgano vegetal" se refiere al tejido vegetal o grupo de tejidos que constituye una parte de una planta morfológica y funcionalmente diferente.

- 35 El término "introducido" significa proporcionar un ácido nucleico (por ejemplo, construcción de expresión) o proteína en una célula. "Introducido" incluye referencia a la incorporación de un ácido nucleico en una célula eucariota o procariota donde el ácido nucleico se puede incorporar en el genoma de la célula, e incluye referencia a la provisión transitoria de un ácido nucleico o proteína a la célula. "Introducido" incluye la referencia a métodos de transformación estables o transitorios, así como de cruzamiento sexual. Por lo tanto, "introducido" en el contexto de insertar un fragmento de ácido nucleico (por ejemplo, una construcción de ADN recombinante/construcción de expresión) en
40 una célula significa "transfección" o "transformación" o "transducción" e incluye referencia a la incorporación de un fragmento de ácido nucleico en una célula eucariota o procariota donde el fragmento de ácido nucleico se puede incorporar en el genoma de la célula (por ejemplo, cromosoma, plásmido, plástido o ADN mitocondrial), convertido en un replicón, o expresado de forma temporal (por ejemplo, ARNm transfectado).

- 45 El término "genoma" aplicado a células de plantas abarca no solo el ADN cromosómico encontrado dentro del núcleo, sino el ADN de organelo encontrado dentro de los componentes subcelulares (por ejemplo, mitocondrial, plástido) de la célula.

- 50 El término "aislado" se refiere a material, tal como un ácido nucleico o una proteína, que está: (1) sustancial o esencialmente libre de componentes que normalmente acompañan o interactúan con el material tal como se encuentra en su entorno de origen natural o (2) si el material se encuentra en su entorno natural, el material se ha alterado por intervención humana deliberada a una composición y/o ubicado en un locus en la célula diferente del locus nativo al material.

- 55 Tal como se usa en la presente, "dominio" o "dominio funcional" se refiere a una o más secuencias de ácido nucleico que son capaces de suscitar una respuesta biológica en las plantas. La presente invención se refiere a miARN compuestos de al menos 21 secuencias de nucleótidos que actúan ya sea individualmente o junto con otras secuencias miARN, por lo tanto, un dominio podría referirse a miARN individuales o grupos de miARN. Además, las secuencias miARN asociadas con sus secuencias de estructura principal se podrían considerar dominios útiles para procesar el miARN en su forma activa. Tal como se usa en la presente, "subdominios" o "subdominios funcionales"

se refieren a subsecuencias de dominios que son capaces de suscitar una respuesta biológica en las plantas. Un miARN se podría considerar un subdominio de una secuencia de estructura principal. Los dominios o secuencias "contiguas" se refieren a secuencias que están unidas de forma secuencial sin nucleótidos agregados interviniendo entre los dominios.

- 5 La interferencia de ARN se refiere al proceso de silenciamiento génico postranscripcional específico a la secuencia en animales mediado por ARN interferente pequeño (ARNip) (Fire et ál., Nature 391:806 1998). El proceso correspondiente en plantas se denomina comúnmente silenciamiento génico postranscripcional (PTGS) o silenciamiento de ARN y también se denomina extinción en los hongos. Se piensa que el proceso de silenciamiento génico postraduccional es un mecanismo de defensa celular conservado por evolución utilizado para evitar la expresión de genes extraños y es compartido comúnmente por una diversidad de flora y filos (Fire et ál., Trends Genet. 15:358 1999). Dicha protección de la expresión de genes extraños puede haber evolucionado en respuesta a la producción de ARN de cadena doble (ARNbc) derivado de la infección viral o de la integración aleatoria de elementos transposones en un genoma hospedador a través de una respuesta celular que destruye específicamente el ARN de cadena simple homólogo del ARN genómico viral. La presencia de ARNcd en células suscita la respuesta de ARNi a través de un mecanismo que aun no se ha caracterizado totalmente.

La presencia de ARNcd largos en células estimula la actividad de una enzima de ribonucleasa III referida como "dicer". Dicer está implicado en el procesamiento del ARNcd en piezas cortas de ARNdc conocido como ARN interferente pequeño (ARNip) (Berstein et ál., Nature 409:363 2001) y/o pre miARN en miARN. Los ARN interferentes pequeños derivados de actividad dicer tienen típicamente alrededor de 21 a 23 nucleótidos de longitud y comprenden dúplex de alrededor de 19 pares de base (Elbashir et ál., Genes Dev. 15:188 2001). Los dicer también han estado implicados en la escisión de ARN temporales pequeños de 21 a 22 nucleótidos (ARNtp) de ARN precursor de estructura conservada que están implicados en el control traduccional (Hutvagner et ál., 2001, Science 293:834). La respuesta de ARNi también muestra un complejo de endonucleasa, comúnmente referido como un complejo de silenciamiento inducido por ARN (RISC), que media la escisión de ARN de cadena simple que tiene complementariedad de secuencia respecto a la cadena antisentido del dúplex de ARNip. La escisión del ARN objetivo tiene lugar en el medio de la región complementaria con la cadena antisentido del dúplex ARNip (Elbashir et ál., Genes Dev. 15:188 2001). Además, la interferencia de ARN también puede implicar silenciamiento génico mediado por ARN pequeño (por ejemplo, microARN, o miARN), presuntamente a través de mecanismos celulares que regulan la estructura de cromatina y por lo tanto evitan la transcripción de secuencias génicas objetivo (ver, por ejemplo, Allshire, Science 297:1818-1819 2002; Volpe et ál., Science 297:1833-1837 2002; Jenuwein, Science 297:2215-2218 2002; y Hall et ál., Science 297:2232-2237 2002). Como tal, las moléculas de miARN descritas en la presente se pueden utilizar para mediar el silenciamiento génico mediante la interacción con transcripciones de ARN o de manera alternativa, mediante interacción con secuencias génicas particulares, donde tal interacción tiene como resultado el silenciamiento génico ya sea a nivel transcripcional o postranscripcional.

- 35 El ARNi se ha estudiado en una variedad de sistemas. Fire et ál. (Nature 391:806 1998) fueron los primeros en observar ARNi en *C. elegans*. Wianny y Goetz (Nature Cell Biol. 2:70 1999) describen ARNi mediado por ARNcd en embriones de ratones. Hammond et ál. (Nature 404:293 2000) describen ARNi en células *Drosophila* transfectadas con ARNcd. Elbashir et ál., (Nature 411:494 2001) describen ARNi inducido por introducción de dúplex de ARN sintéticos de 21 nucleótidos en células de mamífero cultivadas que incluyen células HeLa y de riñón embrionario humano.

Los ARN pequeños tienen un papel importante en el control de la expresión génica. La regulación de muchos procesos de desarrollo que incluyen el florecimiento, es controlada por los ARN pequeños. Ahora es posible diseñar cambios en la expresión génica de genes vegetales al utilizar construcciones transgénicas que producen ARN pequeños en la planta.

- 45 Los ARN pequeños parecen funcionar mediante apareamiento de bases con ARN complementario o secuencias objetivo de ADN. Cuando se unen a ARN, los ARN pequeños provocan la escisión de ARN o la inhibición traduccional de la secuencia objetivo. Cuando se unen a secuencias objetivo de ADN, se cree que los ARN pequeños pueden mediar la metilación de ADN de la secuencia objetivo. La consecuencia de estos eventos, sin importar el mecanismo específico, es que la expresión génica se inhibe.

50 Los microARN (miARN) son ARN no codificantes de alrededor de 19 a alrededor de 24 nucleótidos (nt) de longitud que han sido identificados en animales y plantas (Lagos-Quintana et ál., Science 294:853-858 2001, Lagos-Quintana et ál., Curr. Biol. 12:735-739 2002; Lau et ál., Science 294:858-862 2001; Lee y Ambros, Science 294:862-864 2001; Llave et ál., Plant Cell 14:1605-1619 2002; Mourelatos et ál., Genes. Dev. 16:720-728 2002; Park et ál., Curr. Biol. 12:1484-1495 2002; Reinhart et ál., Genes. Dev. 16:1616-1626 2002). Se procesan de transcripciones precursoras más largas que varían en tamaño de aproximadamente 70 a 200 nt, y estas transcripciones precursoras tienen la capacidad de formar estructuras horquilla estables. En los animales, la enzima implicada en el procesamiento de los precursores de miARN se llama Dicer, una proteína tipo ARNasa III (Grishok et ál., Cell 106:23-34 2001; Hutvagner et ál., Science 293:834-838 2001; Ketting et ál., Genes. Dev. 15:2654-2659 2001). Las plantas también tienen una enzima tipo Dicer, DCL1 (previamente llamada CARPEL FACTORY/SHORT INTEGUMENTS1 / SUSPENSOR1), y pruebas recientes indican que esta, como Dicer, está implicada en el procesamiento de los precursores horquilla para generar miARN maduros (Park et ál., Curr. Biol. 12:1484-1495 2002; Reinhart et ál., Genes. Dev. 16:1616-1626

2002). Además, recientes estudios han demostrado que al menos algunos precursores horquilla de miARN se originan como transcripciones poliadeniladas más largas, y varios miARN diferentes y horquillas asociadas pueden estar presentes en una sola transcripción (Lagos-Quintana et ál., Science 294:853-858 2001; Lee et ál., EMBO J 21:4663-4670 2002). Estudios recientes también han examinado la selección de la cadena de miARN del producto de ARNcd que surge del procesamiento de la horquilla por DICER (Schwartz et ál., 2003, Cell 115:199-208). Parece que la estabilidad (es decir, contenido de G:C vs. A:U y/o malapareamientos) de los dos extremos del ARNcd procesados afecta la selección de cadena con el extremo de estabilidad baja que es más fácil de ser desenrollado por una actividad helicasa. La cadena de extremo 5' en el extremo de baja estabilidad se incorpora en el complejo RISC, mientras que la otra cadena se degrada.

En los animales, existen pruebas directas que indican un papel para los miARN específicos en el desarrollo. Se ha descubierto que los miARN lin-4 y let-7 en *C. elegans* controlan el desarrollo temporal basándose en los fenotipos generados cuando los genes que producen los miARN lin-4 y let-7 están mutados (Lee et ál., Cell 75:843-854 1993; Reinhart et ál., Nature 403:901-906 2000). Además, ambos miARN muestran un patrón de expresión temporal consistente con sus papeles en el momento de desarrollo. Otros miARN de animal muestran patrones de expresión regulados desde el punto de desarrollo, tanto temporal como específico al tejido (Lagos-Quintana et ál., Science 294:853-853 2001, Lagos-Quintana et ál., Curr. Biol. 12:735-739 2002; Lau et ál., Science 294:858-862 2001; Lee y Ambros, Science 294:862-864 2001), que lleva a la hipótesis que los miARN pueden, en muchos casos, estar implicados en la regulación de procesos de desarrollo importantes. Asimismo, en las plantas, los patrones de expresión diferenciales de muchos miARN sugieren un papel en el desarrollo (Llave et ál., Plant Cell 14:1605-1619 2002; Park et ál., Curr. Biol. 12:1484-1495 2002; Reinhart et ál., Genes. Dev. 16:1616-1626 2002). Sin embargo, no se ha probado de forma directa un papel en el desarrollo para miARN en las plantas, dado que a la fecha no se ha informado de un fenotipo de desarrollo asociado con un miARN vegetal específico.

Los microARN parecen regular los genes objetivos al unirse a secuencias complementarias ubicadas en las transcripciones producidas por estos genes. En el caso de lin-4 y let-7, los sitios objetivo están ubicados en los 3' UTR de los ARNm objetivo (Lee et ál., Cell 75:843-854 1993; Wightman et ál., Cell 75:855-862 1993; Reinhart et ál., Nature 403:901-906 2000; Slack et ál., Mol. Cell 5:659-669 2000), y existen varios malapareamientos entre los miARN lin-4 y let-7 y sus sitios objetivo. La unión del miARN lin-4 o let-7 parece causar la regulación por disminución de niveles de estado estable de la proteína codificada por el ARNm objetivo sin afectar la transcripción en sí (Olsen y Ambros, Dev. Biol. 216:671-680 1999). Por otra parte, pruebas recientes sugieren que los miARN pueden, en algunos casos, provocar escisión de ARN específico de la transcripción objetivo dentro del sitio objetivo (Hutvagner y Zamore, Science 297:2056-2060 2002; Llave et ál., Plant Cell 14:1605-1619 2002). Parece probable que los miARN pueden ingresar al menos dos vías de regulación génica objetiva: Regulación por disminución de la proteína y escisión de ARN. Los microARN que ingresan a la vía de escisión de ARN se incorporaron en un complejo de silenciamiento inducido de ARN (RISC) que es similar o idéntico al visto para ARNi.

En la presente se describe un fragmento de ácido nucleico aislado que comprende una secuencia que codifica un precursor de microARN artificial, unido de forma operativa a al menos una secuencia reguladora, donde dicha secuencia que codifica un precursor de microARN artificial se transcribe para que se produzca un producto de transcripción que comprende dicho precursor de miARN artificial, y donde dicho producto de transcripción se procesa para que una miARN madura de alrededor de 21 a 22 nts de longitud se elimine de dicho precursor de miARN artificial, y se inhiba la expresión de un gen biosintético de ácido graso vegetal que se selecciona del grupo que consiste en: fad2-1, fad2-2, fad3, fatB, sad y fael.

También se describe en la presente un fragmento de ácido nucleico aislado que comprende una secuencia que codifica un precursor de microARN artificial, donde dicho precursor de microARN artificial es al menos uno que se selecciona del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166 y 168.

Se describe adicionalmente una secuencia de ácido nucleico aislado que comprende una secuencia que codifica dos o más precursores de microARN artificial, unidos de forma operativa a al menos una secuencia reguladora, donde dichos dos o más precursores de microARN artificiales pueden estar en las mismas unidades transcripcionales o separadas, más donde dicha secuencia que codifica precursores de microARN artificial se transcribe para que se produzca un producto de transcripción que comprende dicho precursor de miARN artificial, y donde dicho producto de transcripción se procesa para que miARN maduros de alrededor de 21 a 22 nts de longitud se eliminen de dichos precursores de miARN artificiales, y se inhiba la expresión de un gen biosintético de ácido graso vegetal que se selecciona del grupo que consiste en: fad2-1, fad2-2, fad3, fatB, sad y fael. Los genes biosintéticos de ácidos grasos vegetales incluyen de modo no taxativo cualquiera de las secuencias de nucleótidos de las SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78 y 174, que codifican secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79 y 175.

Se describe adicionalmente un método para reducir la expresión de dos o más genes biosintéticos de ácido graso vegetal, donde dicho método comprende:

(a) transformar una célula de planta con al menos una secuencia de ácido nucleico aislado que comprende una secuencia que codifica dos o más precursores de microARN artificial, donde dichos dos o más precursores de microARN artificial pueden estar en las mismas unidades transcripcionales o separadas, unidos de forma operativa a al menos una secuencia reguladora;

5 (b) dicha al menos una secuencia que codifica dos o más precursores de microARN artificial se transcribe para que se produzca al menos un producto de transcripción que comprende dichos dos o más precursores de miARN artificial;

(c) dicho al menos un producto de transcripción se procesa para que al menos dos o más miARN de alrededor de 21 a 22 nts de longitud se escindan de dichos precursores de miARN artificial, y

10 (d) la expresión de dos o más genes biosintéticos de ácido graso vegetal que se selecciona del grupo que consiste en: fad2-1, fad2-2, fad3, fatB, sad y fael está reducida,.

Una realización de la presente invención se refiere a construcciones recombinantes que comprenden la secuencia de ácido nucleico aislado de la invención unida de forma operativa a al menos una secuencia reguladora.

15 Las células de plantas que comprenden la construcción recombinante de la invención también están incluidas. Las células de plantas dicotiledóneas que comprenden las construcciones recombinantes de la invención son una realización adicional.

También se describe en la presente un método para reducir la expresión de al menos un gen biosintético de ácido graso vegetal en una célula de planta, donde dicho método comprende:

20 (a) transformar una célula de planta con al menos una secuencia de ácido nucleico aislado que comprende una secuencia que codifica un precursor de microARN artificial, unido de forma operativa a al menos una secuencia reguladora;

(b) dicha al menos una secuencia que codifica dos o más precursores de microARN artificial se transcribe para que se produzca al menos un producto de transcripción que comprende dichos dos o más precursores de miARN artificial;

25 (c) dicho producto de transcripción se procesa para que al menos un miARN maduro de alrededor de 21 a 22 nts de longitud se escinda de dicho precursor de miARN artificial, y

(d) la expresión de al menos un gen biosintético de ácido graso vegetal que se selecciona del grupo que consiste en: fad2-1, fad2-2, fad3, fatB, sad y fael está reducida,.

30 Cualquiera de estos fragmentos de ácido nucleico aislado se pueden utilizar para hacer una construcción recombinante que comprende estos fragmentos de ácido nucleico aislado unido de forma operativa a al menos una secuencia reguladora. Estas construcciones se pueden transformar en células de plantas para que la célula de planta transformada comprenda la construcción recombinante en su genoma. Preferentemente, la célula de planta puede ser una célula de plantade planta dicotiledónea. Ejemplos de células de plantas dicotiledóneas incluyen, de modo no taxativo, soja, colza (por ejemplo, Brassica napus), girasol, lino, algodón, alfalfa, cebada, poroto, arveja, 35 tabaco y *Arabidopsis*.

La célula de plantade planta dicotiledónea más preferida es la soja.

40 Se describe adicionalmente una secuencia de ácido nucleico aislado que comprende una secuencia que codifica al menos un precursor de microARN artificial, unido de forma operativa a al menos una secuencia reguladora, donde dicha secuencia que codifica al menos un precursor de microARN artificial es capaz de formar un ARN de doble cadena u horquilla, donde el al menos un precursor de amiARN comprende al menos un precursor de miARN modificado en el que la secuencia de miARN y su secuencia complementaria son reemplazados por al menos una secuencia de amiARN y al menos una secuencia STAR, donde la expresión de al menos un gen biosintético de ácido graso vegetal que se selecciona del grupo que consiste en: fad2-1, fad2-2, fad3, fatB, sad y fael está inhibida.

45 Se describe adicionalmente una secuencia de ácido nucleico aislado que comprende una secuencia que codifica dos o más precursores de microARN artificial, unidos de forma operativa a al menos una secuencia reguladora, donde dichos dos o más precursores de microARN artificial pueden estar en las mismas unidades transcripcionales o separadas, más donde dichas secuencias que codifican dos o más precursores de microARN artificial son capaces de formar un ARN de doble cadena u horquilla, donde los dos o más precursores de amiARN comprenden uno o más precursores de miARN modificado en el que la o las secuencias de miARN y su secuencia o secuencias 50 complementarias son reemplazadas por dos o más secuencias de amiARN y dos o más secuencias STAR, y además donde la expresión de al menos dos o más genes biosintéticos de ácido graso vegetal seleccionados del grupo que consiste en: fad2-1, fad2-2, fad3, fatB, sad, y fael están inhibidos.

En una descripción adicional, en cualquiera de las secuencias de ácido nucleico aislado descritas en la presente, la o las secuencias de amiARN comprenden al menos uno que se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO:

21, 22, 23, 24, 25, 80, 83, 86, 89, 92, 95, 98 y 101.

Las semillas o plantas transgénicas que comprenden estas amiARN también se describen en la presente y los métodos que utilizan estas amiARN también se describen en la presente.

La invención se refiere al uso de una secuencia de nucleótidos tal como se establece en la SEQ ID NO:130. En particular, la presente invención proporciona una secuencia de ácido nucleico aislado que comprende una secuencia que codifica al menos un precursor de microARN artificial, unido de forma operativa a al menos una secuencia reguladora, donde dicha secuencia que codifica al menos un precursor de microARN artificial es capaz de formar un ARN de doble cadena u horquilla, donde el al menos un precursor de amiARN comprende al menos un precursor de miARN modificado en el que la secuencia de miARN y su secuencia complementaria son reemplazados por al menos una secuencia de amiARN y al menos una secuencia STAR, donde la expresión de al menos el gen biosintético de ácido graso de planta fad3 está inhibido y el precursor de microARN artificial comprende una secuencia de nucleótidos según se establece en la SEQ ID NO:130.

La invención también proporciona una construcción recombinante que comprende la secuencia de ácido nucleico aislado de la invención unida de forma operativa a al menos una secuencia reguladora y una célula de planta que comprende la construcción recombinante.

La invención también proporciona un método para reducir la expresión de al menos un gen biosintético de ácido graso vegetal, donde dicho método comprende:

(a) transformar una célula de planta con al menos una secuencia de ácido nucleico aislado que comprende una secuencia que codifica al menos un precursor de microARN artificial, unido de forma operativa a al menos una secuencia reguladora donde el al menos un precursor de microARN artificial comprende una secuencia de nucleótidos tal como se establece en la SEQ ID NO:130;

(b) dicha al menos una secuencia que codifica dos o más precursores de microARN artificial se transcribe para que se produzca al menos un producto de transcripción que comprende dichos dos o más precursores de miARN artificial;

(c) dicho producto de transcripción se procesa para que al menos un miARN maduro de alrededor de 21 a 22 nts de longitud se escinda de dicho precursor de miARN artificial, y

(d) la expresión de al menos el gen biosintético de ácido graso vegetal fad3 está reducida.

Adicionalmente, la invención proporciona una semilla o planta transgénica que comprende la secuencia de ácido nucleico de la invención y un método para disminuir el contenido de ácido α -linolénico en las semillas de soja que comprende las etapas (a) a (d) tal como se define anteriormente donde dicha célula de planta es soja, donde el contenido de ácido α -linolénico está disminuido en comparación con la semilla de soja de tipo salvaje.

Los enfoques bioinformáticos se han utilizado de forma exitosa para predecir objetivos para miARN vegetales (Llave et ál., Plant Cell 14:1605-1619 2002; Park et ál., Curr. Biol. 12:1484-1495 2002; Rhoades et ál., Cell 110:513-520 2002), y por lo tanto parece que los miARN vegetales tienen complementariedad general más alta con sus objetivos putativos que la que tienen los miARN animales. La mayoría de estas transcripciones objetivo previstas de miARN vegetales codifican miembros de familias de factor de transcripción implicadas en patrones de desarrollo vegetal o diferenciación celular.

Las categorías generales de secuencias de interés incluyen, por ejemplo, aquellos genes implicados en la regulación o información, tal como genes de cinco factores de transcripción, genes homeóticos, o moduladores de muerte celular o ciclo celular, aquellos implicados en la comunicación, tal como las cinasas y aquellos implicados en la constitución, tal como las proteínas de choque térmico.

Las secuencias objetivo pueden incluir regiones codificantes y regiones no codificantes tales como promotores, potenciadores, terminadores, intrones y similares.

La secuencia objetivo puede ser una secuencia endógena, o puede ser una secuencia heteróloga introducida, o transgén. Por ejemplo, los métodos se pueden utilizar para alterar la regulación o expresión de un transgén, o para quitar un transgén u otra secuencia introducida tal como un sitio de recombinación específico al sitio introducido. La secuencia objetivo también puede ser una secuencia de un patógeno, por ejemplo, la secuencia objetivo puede ser de un patógeno vegetal tal como un virus, un moho, un hongo, un insecto o un nemátodo. Se podría expresar un miARN en una planta que, luego de la infección o infestación, se dirigiría al patógeno y conferiría algo de resistencia a la planta.

En las plantas, otras categorías de secuencias objetivo incluyen genes que afectan características agronómicas, resistencia a los insectos, resistencia a la enfermedad, resistencia al herbicida, esterilidad, características de grano y productos comerciales. Los genes de interés también incluyen aquellos implicados en el metabolismo del aceite, almidón, carbohidratos o nutrientes así como aquellos que afectan, por ejemplo, el tamaño del grano, carga de la

sacarosa y similares. La calidad del grano se refleja en características tal como niveles y tipos de aceite, saturados y no saturados, calidad y cantidad de aminoácidos esenciales, y niveles de celulosa. Por ejemplo, los genes de la vía biosintética de ácido fítico se podrían suprimir para generar un fenotipo fosforoso altamente disponible. Ver, por ejemplo, las enzimas biosintéticas de ácido fítico que incluyen polinucleótidos de cinasa-2 polifosfato inositol, descrito en WO 02/059324, polinucleótidos de 1,3,4-trisfosfato 5/6-cinasa de inositol, descritos en WO 03/027243, y mio-inositol 1-fosfato sintasa y otros polinucleótidos biosintéticos de fitato descritos en WO 99/05298. Los genes en la vía de la lignificación podrían suprimirse para mejorar la digestión o la disponibilidad de energía. Los genes que afectan al ciclo celular o la muerte celular se podrían suprimir para afectar el crecimiento o la respuesta al estrés. Los genes que afectan a la reparación y/o recombinación del ADN se podrían suprimir para aumentar la variabilidad genética. Los genes que afectan el tiempo de floración se podrían suprimir, así como los genes que afectan la fertilidad. Se podría suprimir cualquier secuencia objetivo para evaluar o confirmar su papel en un rasgo o fenotipo particular, o para examinar una vía o red molecular, reguladora, bioquímica o proteómica.

Se puede utilizar una cantidad de promotores. Estos promotores se pueden seleccionar basándose en el resultado deseado. Se reconoce que diferentes aplicaciones serán mejoradas mediante el uso de distintos promotores en los casetes de expresión vegetal a fin de modular el tiempo, la ubicación y/o el nivel de expresión del miARN. Tales casetes de expresión vegetal también pueden contener, de ser deseado, una región reguladora de promotores (por ejemplo, una que confiere expresión inducible, constitutiva, regulada por el entorno o el desarrollo o específica/selectiva de la célula o el tejido), un sitio de comienzo de la iniciación de transcripción, un sitio de unión de ribosomas, una señal de procesamiento de ARN, un sitio de terminación de transcripción y/o una señal de poliadenilación.

Se pueden emplear promotores inducibles, constitutivos o que prefieren tejido. Ejemplos de promotores constitutivos incluyen la región de inicio de la transcripción 35S del virus del mosaico de la coliflor (CaMV), el promotor 1' o 2' derivado de T-ADN de *Agrobacterium tumefaciens*, el promotor de la ubiquitina 1, el promotor Smas, el promotor de cinamil alcohol deshidrogenasa (patente estadounidense n.º 5,683,439), el promotor Nos, el promotor pEmu, el promotor rubisco, el promotor GRP1-8 y otras regiones de inicio de transcripción de varios genes vegetales conocidos por los expertos. Si se desea bajo nivel de expresión, se pueden utilizar promotores débiles. Los promotores constitutivos débiles incluyen, por ejemplo, el promotor de núcleo del promotor Rsyn7 (WO 99/43838 y la patente estadounidense n.º 6,072,050), el promotor de núcleo de CaMV 35S, y similares. Otros promotores constitutivos incluyen, por ejemplo, las patentes estadounidenses n.º 5,608,149; 5,608,144; 5,604,121; 5,569,597; 5,466,785; 5,399,680; 5,268,463; y 5,608,142. Ver también, la patente estadounidense n.º 6,177,611.

Ejemplos de promotores inducibles son el promotor Adh1 que es inducible por hipoxia o estrés por frío, el promotor Hsp70 que es inducible por estrés por calor, el promotor PPK y el promotor pepcarboxilasa que son ambos inducibles por luz. También son útiles los promotores que son químicamente inducibles, tal como el promotor In2-2 que se induce por protector (patente estadounidense 5,364,780), el promotor ERE que es inducido por estrógeno, y el promotor Axig1 que es inducido por auxina y específico al tapetum pero también es activo en los callos (WO 02/06499).

Ejemplos de promotores bajo control de desarrollo incluyen los promotores que inician preferentemente la transcripción en determinados tejidos, tales como hojas, raíces, frutas, semillas o flores. Un promotor de ejemplo es el promotor específico de anteras 5126 (patentes estadounidenses n.º 5,689,049 y 5,689,051). Ejemplos de promotores que prefieren semillas incluyen, de modo no taxativo, el promotor de la gamma zeína de 27 kD y el promotor ceroso, Boronat, A. et ál. (1986) Plant Sci. 47:95-102; Reina, M. et ál. Nucl. Acids Res. 18(21):6426; y Kloesgen, R.B. et ál. (1986) Mol. Gen. Genet. 203:237-244. Los promotores que se expresan en el embrión, pericarpio y endospermo se describen en la patente estadounidense n.º 6,225,529 y la publicación PCT WO 00/12733.

En algunas realizaciones, será beneficioso expresar el gen de un promotor inducible, particularmente de un promotor inducible de patógenos. Tales promotores incluyen aquellos de las proteínas relacionadas con la patogénesis (proteínas PR), que son inducidos luego de la infección por un patógeno; por ejemplo, proteínas PR, proteínas SAR, beta-1,3-glucanasa, quitinasa, etc. Ver, por ejemplo, Redolfi et ál. (1983) Neth. J. Plant Pathol. 89:245-254; Uknes et ál. (1992) Plant Cell 4:645-656; y Van Loon (1985) Plant Mol. Virol. 4:111-116. Ver también WO 99/43819.

Presentan interés los promotores que se expresan localmente en o cerca del sitio de infección por patógenos. Ver, por ejemplo, Marineau et ál. (1987) Plant Mol. Biol. 9:335-342; Matton et ál. (1989) Molecular Plant-Microbe Interactions 2:325-331; Somsisch et ál. (1986) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83:2427-2430; Somsisch et ál. (1988) Mol. Gen. Genet. 2:93-98; y Yang (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:14972-14977. Ver también, Chen et ál. (1996) Plant J. 10:955-966; Zhang et ál. (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:2507-2511; Warner et ál. (1993) Plant J. 3:191-201; Siebert et ál. (1989) Plant Cell 1:961-968; patente estadounidense n.º 5,750,386 (inducible de nemátodos); y las referencias citadas en esta. De interés particular es el promotor inducible para el gen PRms del maíz, cuya expresión es inducida por el patógeno *Fusarium moniliforme* (ver, por ejemplo, Cordero et ál. (1992) Physiol. Mol. Plant Path. 41:189-200).

De manera adicional, a medida que los patógenos encuentran entrada en las plantas a través de heridas o daños por insectos, se puede utilizar un promotor inducible por heridas en las construcciones de los polinucleótidos. Tales

promotores inducibles por heridas incluyen el gen inhibidor de la proteinasa de papa (pin II) (Ryan (1990) Ann. Rev. Phytopath. 28:425-449; Duan et ál. (1996) Nature Biotech. 14:494-498); *wun1* y *wun2*, la patente estadounidense n.º 5,428,148; *win1* y *win2* (Stanford et ál. (1989) Mol. Gen. Genet. 215:200-208); *sistemia* (McGurl et ál. (1992) Science 225:1570-1573); *WIP1* (Rohmeier et ál. (1993) Plant Mol. Biol. 22:783-792; Eckelkamp et ál. (1993) FEBS Lett. 323:73-76); *gen MPI* (Corderok et ál. (1994) Plant J. 6(2):141-150); y similares.

Los promotores regulados por químicos se pueden utilizar para modular la expresión de un gen en una planta a través de la aplicación de un regulador químico exógeno. Dependiendo del objetivo, el promotor puede ser un promotor inducible por químicos, donde la aplicación del químico induce la expresión génica o un promotor reprimible químicamente, donde la aplicación del químico reprime la expresión génica. Los promotores inducibles químicamente se conocen en la técnica e incluyen, de modo no taxativo, el promotor *ln2-2* del maíz, que es activado por protectores herbicidas de bencenosulfonamida, el promotor *GST* del maíz, que es activado por compuestos electrofílicos hidrófobos que se utilizan como herbicidas antes de la emergencia, y el promotor *PR-1a* del tabaco, que es activado por ácido salicílico. Otros promotores regulados químicamente de interés incluyen promotores que responden a los esteroides (ver, por ejemplo, el promotor inducible por glucocorticoides en Schena et ál. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:10421-10425 y McNellis et ál. (1998) Plant J. 14(2):247-257) y los promotores inducibles por tetraciclinas y reprimibles por tetraciclinas (véase, por ejemplo, Gatz et ál. (1991) Mol. Gen. Genet. 227:229-237, y las patentes estadounidenses 5,814,618 y 5,789,156).

Se pueden utilizar promotores preferidos de tejidos para dirigir la expresión aumentada de una secuencia de interés dentro de un tejido vegetal particular. Promotores preferidos de tejidos incluyen Yamamoto et ál. (1997) Plant J. 12(2):255-265; Kawamata et ál. (1997) Plant Cell Physiol. 38(7):792-803; Hansen et ál. (1997) Mol. Gen. Genet. 254(3):337-343; Russell et ál. (1997) Transgenic Res. 6(2):157-168; Rinehart et ál. (1996) Plant Physiol. 112(3):1331-1341; Van Camp et ál. (1996) Plant Physiol. 112(2):525-535; Canevascini et ál. (1996) Plant Physiol. 112(2):513-524; Yamamoto et ál. (1994) Plant Cell Physiol. 35(5):773-778; Lam (1994) Results Probl. Cell Differ. 20:181-196; Orozco et ál. (1993) Plant Mol Biol. 23(6):1129-1138; Matsuoka et ál. (1993) Proc Natl. Acad. Sci. USA 90(20):9586-9590; y Guevara-García et ál. (1993) Plant J. 4(3):495-505. Tales promotores se pueden modificar, de ser necesario, por expresión débil.

Se conocen en la técnica promotores preferidos de hojas. Ver, por ejemplo, Yamamoto et ál. (1997) Plant J. 12(2):255-265; Kwon et ál. (1994) Plant Physiol. 105:357-67; Yamamoto et ál. (1994) Plant Cell Physiol. 35(5):773-778; Gotor et ál. (1993) Plant J. 3:509-18; Orozco et ál. (1993) Plant Mol. Biol. 23(6):1129-1138; y Matsuoka et ál. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90(20):9586-9590. Además, los promotores de *cab* y *rubisco* también se pueden utilizar. Ver, por ejemplo, Simpson et ál. (1958) EMBO J 4:2723-2729 y Timko et ál. (1988) Nature 318:57-58. Los promotores preferidos de raíces se conocen y se pueden seleccionar de los muchos disponibles de la bibliografía o aislar de novo de diversas especies compatibles. Ver, por ejemplo, Hire et ál. (1992) Plant Mol. Biol. 20(2):207-218 (gen de glutamina sintetasa específico a la raíz de la soja); Keller y Baumgartner (1991) Plant Cell 3(10):1051-1061 (elemento de control específico de raíz en el gen 1.8 GRP de la judía verde); Sanger et ál. (1990) Plant Mol. Biol. 14(3):433-443 (promotor específico a la raíz del gen de manopina sintasa (MAS) de *Agrobacterium tumefaciens*); y Miao et ál. (1991) Plant Cell 3(1):11-22 (clon de ADNc de longitud completa que codifica la glutamina sintetasa (GS) citosólica, que se expresa en las raíces y los nódulos de las raíces de la soja). Ver también Bogusz et ál. (1990) Plant Cell 2(7):633-641, donde se describen dos promotores específicos de raíces aislados de genes de hemoglobina de la no legumbre *Parasponia andersonii* que se fija al nitrógeno y la no legumbre relacionada *Trema tomentosa* que no se fija al nitrógeno. Los promotores de estos genes se unieron a un gen reportero de β -glucuronidasa y se introdujeron en la no legumbre *Nicotiana tabacum* y la legumbre *Lotus corniculatus*, y en ambos casos se preservó la actividad promotora específica de la raíz. Leach y Aoyagi (1991) describen sus análisis de los promotores de los genes inductores de raíces *rolC* y *rolD* altamente expresados de *Agrobacterium rhizogenes* (ver Plant Science (Limerick) 79(1):69-76). Llegaron a la conclusión de que los determinantes de ADN potenciadores y preferidos de tejidos están disociados en esos promotores. Teeri et ál. (1989) utilizaron la fusión de genes a *lacZ* para mostrar que el gen de T-ADN de *Agrobacterium* que codifica la octopina sintasa se encuentra especialmente activo en la epidermis de la punta de la raíz y que el gen *TR2'* es específico a la raíz en la planta intacta y es estimulado por lesiones en el tejido de las hojas, una combinación especialmente deseable de características para utilizar con un gen insecticida o larvicida (ver EMBO J. 8(2):343-350). El gen *TR1'*, fusionado a *nptII* (neomicina fosfotransferasa II) mostraba características similares. Promotores adicionales preferidos de raíces incluyen el promotor del gen *VfENOD-GRP3* (Kuster et ál. (1995) Plant Mol. Biol. 29(4):759-772); y el promotor *rolB* (Capana et ál. (1994) Plant Mol. Biol. 25(4):681-691. Ver también las patentes estadounidenses n.º 5,837,876; 5,750,386; 5,633,363; 5,459,252; 5,401,836; 5,110,732; y 5,023,179. El gen de faseolina (Murai et ál. (1983) Science 23:476-482 y Sengopta-Gopalen et ál. (1988) PNAS 82:3320-3324).

Los protocolos de transformación, así como los protocolos para introducir secuencias de nucleótidos en plantas pueden variar dependiendo del tipo de planta o célula de planta, es decir, monocotiledóneas o dicotiledóneas, diana de la transformación. Métodos adecuados para introducir la construcción de ADN incluyen microinyección (Crossway et al. (1986) Biotechniques 4:320-334; y la patente estadounidense n.º 6,300,543), cruzamiento sexual, electroporación (Riggs et ál. (1986) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83:5602-5606), transformación mediada por *Agrobacterium* (Townsend et ál., patente estadounidense n.º 5,563,055; y la patente estadounidense n.º 5,981,840), transferencia génica directa (Paszowski et ál. (1984) EMBO J. 3:2717-2722), y aceleración de partículas de balística (ver, por ejemplo, Sanford et ál., patente estadounidense n.º 4,945,050; Tómes et ál., patente

estadounidense n.º 5,879,918; Tomes et ál., patente estadounidense n.º 5,886,244; Bidney et ál., patente estadounidense n.º 5,932,782; Tomes et ál. (1995) "Direct DNA Transfer into Intact Plant Cells via Microprojectile Bombardment," in *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture: Fundamental Methods*, ed. Gamborg y Phillips (Springer-Verlag, Berlin); y McCabe et ál. (1988) *Biotechnology* 6:923-926). Ver también Weissinger et ál. (1988) *Ann. Rev. Genet.* 22:421-477; Sanford et ál. (1987) *Particulate Science and Technology* 5:27-37 (cebolla); Christou et ál. (1988) *Plant Physiol.* 87:671-674 (soja); Finer y McMullen (1991) *In Vitro Cell Dev. Biol.* 27P:175-182 (soja); Singh et ál. (1998) *Theor. Appl. Genet.* 96:319-324 (soja); Datta et ál. (1990) *Biotechnology* 8:736-740 (arroz); Klein et ál. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:4305-4309 (maíz); Klein et ál. (1988) *Biotechnology* 6:559-563 (maíz); Tomes, patente estadounidense n.º 5,240,855; Buising et ál., patentes estadounidenses n.º 5,322,783 y 5,324,646; Klein et ál.; (1988) *Plant Physiol.* 91:440-444 (maíz); Fromm et ál. (1990) *Biotechnology* 8:833-839 (maíz); Hooymaas-Van Slogteren et ál. (1984) *Nature (London)* 311:763-764; Bowen et ál., patente estadounidense n.º 5,736,369 (cereales); Bytchier et ál. (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:5345-5349 (Liliaceae); De Wet et ál. (1985) en *The Experimental Manipulation of Ovule Tissues*, ed. Chapman et ál. (Longman, Nueva York), pp. 197-209 (polen); Kaeppler et ál. (1990) *Plant Cell Reports* 9:415-418 y Kaeppler et ál. (1992) *Theor. Appl. Genet.* 84:560-566 (transformación mediada por filamentos); D'Halluin et ál. (1992) *Plant Cell* 4:1495-1505 (electroporación); Li et ál. (1993) *Plant Cell Reports* 12:250-255 y Christou y Ford (1995) *Annals of Botany* 75:407-413 (arroz); Osjoda et ál. (1996) *Nature Biotechnology* 14:745-750 (maíz mediante *Agrobacterium tumefaciens*); y la patente estadounidense n.º 5,736,369 (transformación del meristemo).

Las construcciones del nucleótido se pueden introducir en las plantas al poner en contacto las plantas con un virus o ácidos nucleicos virales. Generalmente, tales métodos implican incorporar una construcción de nucleótidos tal como se describe en la presente dentro de una molécula de ARN o ADN viral. Adicionalmente, se reconoce que los promotores útiles abarcan promotores utilizados para la transcripción mediante polimerasas de ARN virales. Se conocen en la técnica métodos para introducir construcciones de nucleótidos en plantas y expresar una proteína codificada en ellas, que implican moléculas de ADN o ARN virales. Ver, por ejemplo, las patentes estadounidenses n.º 5,889,191, 5,889,190, 5,866,785, 5,589,367 y 5,316,931.

En algunas realizaciones, puede desearse expresión transitoria. En esos casos, se pueden utilizar técnicas estándar de transformación transitoria. Tales métodos incluyen, de modo no taxativo, métodos de transformación viral, y microinyección de ADN o ARN, así como otros métodos bien conocidos en la técnica.

Las células de las plantas que han incorporado de manera estable la secuencia de nucleótidos se pueden cultivar en plantas de acuerdo con formas convencionales. Véase, por ejemplo, McCormick et ál. (1986) *Plant Cell Reports* 5:81-84. Estas plantas pueden cultivarse luego, y polinizarse con la misma cepa transformada o con cepas diferentes, y el híbrido resultante que tiene expresión constitutiva de la característica fenotípica deseada impartida por la secuencia de nucleótidos de interés y/o los marcadores genéticos contenidos dentro del sitio objetivo o casete de transferencia. Se pueden cultivar dos o más generaciones para garantizar que la expresión de la característica fenotípica deseada se mantiene y hereda de forma estable y luego las semillas se cosechan para garantizar que se ha logrado la expresión de la característica fenotípica deseada.

Fad2-1 y fad2-2 son familias génicas de desaturasas de ácidos grasos [Developmental and growth temperature regulation of two different microsomal omega.6 desaturase genes in soybeans. Heppard, Elmer P.; Kinney, Anthony J.; Stecca, Kevin L.; Miao, Guo-Hua. *Agric. Products Dep., E. I. du Pont de Nemours Co., Wilmington, DE, USA. Plant Physiology* (1996), 110(1), 311-19], también conocidas como delta-12 desaturasa u omega-6 desaturasa (patentes estadounidenses n.º US6872872B1, US6919466B2, US7105721 B2). FatB es una tioesterasa que codifica un palmitoil-tioesterasa (Kinney, A.J. (1997) *Genetic engineering of oilseeds for desired traits*. En: *Genetic Engineering*, Vol. 19, (Setlow J.K. Plenum Press, Nueva York, NY, pp. 149-166.). Sad es una desaturasa de ácido esteárico y pertenece a la familia génica Sad, también conocida como delta-9 estearoil-ACP desaturasa (patente estadounidense n.º 7498427B2, US6949698B2). Fad3 pertenece a la familia génica de desaturasa 3 de ácido graso (fad3) (patente estadounidense n.º US5952544A). Fael es una elongasa de ácido graso (número de publicación US 2007/0204370 A1, presentada el 24 de noviembre de 2004).

Ejemplos

Ejemplo 1

Las construcciones de microARN artificial (amiARN) para silenciamiento de genes biosintéticos de ácidos grasos de soja

Genes biosintéticos de ácidos grasos dirigidos para silenciamiento

Las secuencias de familia de genes clave dirigidas para el silenciamiento en soja son la familia génica desaturasa (Sad) de ácido esteárico, también conocida como delta-9 estearoil-ACP desaturasa (patente estadounidense n.º 7498427B2, US6949698B2), las familias génicas de desaturasa de ácido graso 2-1 (Fad2-1) o 2-2 (fad2-2) [Developmental and growth temperature regulation of two different microsomal omega.6 desaturase genes in soybeans. Heppard, Elmer P.; Kinney, Anthony J.; Stecca, Kevin L.; Miao, Guo-Hua. *Agric. Products Dep., E. I. du Pont de Nemours Co., Wilmington, DE, USA. Plant Physiology* (1996), 110(1), 311-19.], también conocidas como

delta-12 desaturasa u omega-6 desaturasa (patentes estadounidenses n.º US6872872B1, US6919466B2, US7105721 B2), la familia génica de desaturasa de ácido graso 3 (fad3) (patente estadounidense n.º US5952544A) y la familia génica de tioesterasa B (fatB) de ácido graso, también conocida como palmitoil-ACP tioesterasa (patentes estadounidenses n.º US5955650A, USRE37317E1). Una lista de genes biosintéticos de ácido graso dirigidos para silenciamiento mediante amiARN, junto con el identificador génico de la secuencia de genomas de soja (Glyma) correspondiente, nt SEQ ID NO y aa SEQ ID NO se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1: Secuencias génicas biosintéticas de ácido graso de soja dirigidas para silenciamiento

Familia génica	Genes Glyma	nt SEQ ID NO	aa SEQ ID NO
GmFad2-1	Glyma10g42470	1	2
	Glyma20g24530	3	4
GmFad2-2	Glyma19g32940	5	6
GmSad	Glyma02g15600	7	8
	Glyma07g32850	9	10
GmFad3	Glyma14g37350	11	12
	Glyma02g39230	13	14
	Glyma18g06950	15	16
GmFatB	Glyma05g08060	17	18
	Glyma17g12940	19	20

Diseño de secuencias de microARN artificial

Las microARN artificiales (amiARN) que tendrían la capacidad de silenciar los genes objetivos deseados se diseñaron en gran medida de acuerdo con las reglas descritas en Schwab R, et ál. (2005) Dev Cell 8: 517-27. En resumen, las secuencias de microARN tienen 21 nucleótidos de longitud, comienzan en su extremo 5' con una "U", muestran inestabilidad de 5' respecto a su secuencia star que se logra al incluir una C o G en la posición 19, y su 10º nucleótido es una "A" o una "U". Un requisito adicional para el diseño de microARN artificial fue que el amiARN tuviera un delta-G libre elevado tal como se calculó utilizando el algoritmo ZipFold (Markham, N. R. & Zuker, M. (2005) Nucleic Acids Res. 33: W577-W581.).

El diseño y síntesis de las secuencias amiARN para dirigirse a los genes fad2-1 y fad2-2 de soja se describió previamente en US20090155910A1 (WO 2009/079532) (cuyo contenido se incorpora mediante esta referencia) y se muestran en la Tabla 2. Las secuencias de amiARN nuevas que se dirigen a los genes fad3, fatB y sad de soja se diseñaron similarmente y también se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2: amiARN para secuencias génicas biosintéticas de ácido graso de soja dirigidas para silenciamiento

Familia génica	amiARN	nt SEQ ID NO
GmFad2-1	GM-MFAD2-1B	21
GmFad2-2	GM-MFAD2-2	22
GmSad	GM-MSAD3	23
GmFad3	GM-MFAD3C	24
FatB	GM-MFATBF	25

Diseño de una secuencia star artificial

Las "secuencias star" son aquellas cuyas bases se aparean con las secuencias de amiARN, en el ARN precursor, para formar estructuras de tallo imperfectas. Para formar una estructura de tallo perfecta, la secuencia star sería el complemento inverso exacto del amiARN. La secuencia del precursor de soja tal como se describe en "Novel and nodulation-regulated microRNAs in soybean roots" Subramanian S, Fu Y, Sunkar R, Barbazuk WB, Zhu JK, Yu O BMC Genomics. 9:160(2008) y accedida en mirBase (Conservation and divergence of microRNA families in plants" Dezulian T, Palatnik JF, Huson DH, Weigel D (2005) Genome Biology 6:P13) se plegó utilizando mfold (M. Zuker (2003) Nucleic Acids Res. 31: 3406-15; y D.H. Mathews, J. et ál. (1999) J. Mol. Biol. 288: 911-940). La secuencia miARN luego se reemplazó con la secuencia amiARN y la secuencia star endógena se reemplazó con el complemento inverso exacto del amiARN. Los cambios en la secuencia star artificial se introdujeron para que la estructura del tallo permanecieran igual a la de la estructura endógena. La secuencia alterada luego se plegó con

mfold y las estructuras alteradas y original se compararon a ojo. De ser necesario, se introdujeron alternaciones adicionales a la secuencia star artificial para mantener la estructura original.

El diseño y síntesis de las secuencias STAR que se emparejan con amiARN para dirigir los genes fad2-1 y fad2-2 de soja se describió previamente en US20090155910A1 (WO 2009/079532) y se muestran en la Tabla 3. Las secuencias de STAR nuevas que se emparejan con amiARN para dirigirse a los genes fad3, fatB y sad de soja se diseñaron similarmente y también se muestran en la Tabla 3. Las secuencias STAR difieren para un amiARN dado con el cual se emparejan dependiendo de la secuencia precursora amiARN utilizada y esto se indica además en la Tabla 3.

Tabla 3: Secuencias Star para secuencias génicas biosintéticas de ácido graso de soja dirigidas para silenciamiento

Familia génica	Secuencia STAR	nt SEQ ID NO
GmFad2-1	159-GM-MFAD2-1B	26
	396b-GM-MFAD2-1B	27
GmFad2-2	159-GM-MFAD2-2	28
GmSad	396b-GM-MSAD3	29
GmFad3	159-GM-MFAD3C	30
FatB	159-GM-FATBF	31

Ejemplo 2 (profético)

Conversión de precursores de microARN genómico a precursores de microARN artificial

Los genes precursores de miARN genómico ("estructuras"), tales como aquellos descritos en US20090155909A1 (WO 2009/079548) y en US20090155910A1 (WO 2009/079532), se pueden convertir en amiARN utilizando PCR superpuesto, y los ADN resultantes se pueden secuenciar completamente y luego clonar posterior a un promotor apropiado en un vector capaz de transformación.

De manera alternativa, los amiARN se pueden sintetizar de forma comercial, por ejemplo, mediante Codon Devices (Cambridge, MA), DNA 2.0 (Menlo Park, CA) o Genescript (Piscataway, NJ). El ADN sintetizado luego se clona posterior a un promotor apropiado en un vector capaz de transformación de soja.

Los miARN artificiales también se pueden construir utilizando tecnología In-Fusion™ (Clontech, Mountain View, CA).

Ejemplo 3

Generación de precursores de amiARN para silenciar genes biosintéticos de ácidos grasos de soja

La identificación de las secuencias precursoras de miARN genómico 159 a 396b se describió previamente en US20090155910A1 (WO 2009/079532) y sus secuencias están establecidas en SEQ ID NO: 152 y SEQ ID NO: 153, respectivamente.

Los genes precursores de miARN genómico se convirtieron en precursores de amiARN 159-fad2-1 b, 396b-fad2-1 b y 159-fad2-2 utilizando PCR superpuesto tal como se describe previamente en US20090155910A1 (WO 2009/079532). Los amiARN precursores 159-fad2-1 b y 396b-fad2-1 b luego se clonaron individualmente posterior al promotor de beta-conglicina en el plásmido PHP27753 (también conocido como plásmido KS332, descrito en la solicitud de patente estadounidense n.º 13/295,345, denominación del solicitante BB-1623 USCNT), para formar las construcciones de expresión PHP32511 y PHP32510, respectivamente, tal como se describe en US20090155910A1. La US20090155910A1 describe adicionalmente la clonación del precursor de amiARN 159-fad2-2 posterior de 396b-fad2-1 b o 159-fad2-1 b para producir PHP32843 y PHP32869, respectivamente. Las SEQ ID NO de las secuencias para los amiARN precursores 159-fad2-1 b, 396b-fad2-1 b, 159-fad2-2 y 396b-fad2-1b/159-fad2-2, así como los plásmidos PHP32511, PHP32510 y PHP32843 se muestran en la Tabla 4.

El gen precursor miARN genómico 396b se convirtió al precursor amiARN 396b-sad3 utilizando PCR superpuesto por el método previamente descrito en US20090155910A1 (WO 2009/079532). El precursor amiARN 396b-sad3 se clonó 3' (posterior) del 396b-fad2-1 b en el vector de expresión PHP27753 para producir la construcción PHP33705. La SEQ ID NO de la secuencia del amiARN precursor 396b-sad3 y 396b-sad3/396b-fad2-1 b, así como el plásmido PHP33705 se muestra en la Tabla 4.

El gen precursor miARN genómico 159 se convirtió en el precursor amiARN 159-fad3c utilizando PCR superpuesto por el método previamente descrito en US20090155910A1 (WO 2009/079532). El precursor amiARN 159-fad3c se clonó en el vector de expresión PHP27753 para producir la construcción PHP38557. La SEQ ID NO de la secuencia del amiARN precursor 159-fad3c, así como el plásmido PHP38557 se muestra en la Tabla 4.

El gen precursor miARN genómico 159 se convirtió en el precursor amiARN 159-fatBF utilizando PCR superpuesto por el método previamente descrito en US20090155910A1 (WO 2009/079532). El precursor amiARN 159-fatBF se clonó en el vector de expresión PHP27753 para producir la construcción PHP41103. La SEQ ID NO de la secuencia del amiARN precursor 159-fatb, así como el plásmido PHP41103 se muestra en la Tabla 4.

- 5 El fragmento NotI de PHP38557, que contiene el precursor de amiARN 159-fad3c, se clonó en el sitio NotI del vector PKR72, descrito en la patente estadounidense n.º US8049062, para producir la construcción pKR1756. La SEQ ID NO de la secuencia del amiARN precursor 159-fad3c, así como el plásmido pKR1756 se muestra en la Tabla 4.

El fragmento NotI de PHP41103, que contiene el precursor de amiARN 159-fatBF, se clonó en el sitio NotI del vector PKR72, descrito en la patente estadounidense n.º US8049062, para producir la construcción pKR1757. La SEQ ID NO de la secuencia del amiARN precursor 159-fatb, así como el plásmido pKR1757 se muestra en la Tabla 4.

- 10

Los precursores de amiARN 159-fad3c y 159-fatBF se generaron tal como se describe anteriormente y se clonaron juntos (en ese orden) posterior al promotor de beta-conglicina en el vector de expresión PKR72, descrito en la patente estadounidense n.º US8049062, para producir la construcción pKR1766. La SEQ ID NO de la secuencia del amiARN precursor 159-fad3c/159-fatBF, así como el plásmido pKR1766 se muestra en la Tabla 4.

- 15 Los precursores de amiARN 159-fatBF y 159-fad3c se generaron tal como se describe anteriormente y se clonaron juntos (en ese orden) posterior al promotor de beta-conglicina en el vector de expresión PKR72, descrito en la patente estadounidense n.º US8049062, para producir la construcción pKR1771. La SEQ ID NO de la secuencia del amiARN precursor 159-fatBF/159-fad3c, así como el plásmido pKR1771 se muestra en la Tabla 4.

- 20 Los precursores de amiARN 159-fad2-1 b, 159-fatBF y 159-fad3c se generaron tal como se describe anteriormente y se clonaron juntos (en ese orden) en el vector de expresión PHP27753 para producir la construcción PHP41784. La SEQ ID NO de la secuencia del amiARN precursor 159-fad2-1b/159-fatBF/159-fad3c, así como el plásmido PHP41784 se muestra en la Tabla 4.

- 25 Los precursores de amiARN 396b-fad2-1 b, 159-fatBF y 159-fad3c se generaron tal como se describe anteriormente y se clonaron juntos (en ese orden) posterior al promotor de beta-conglicina en el vector de expresión PKR72, descrito en la patente estadounidense n.º US8049062, para producir la construcción pKR1776. La SEQ ID NO de la secuencia del amiARN precursor 396b-fad2-1 b/159-fatBF/159-fad3c, así como el plásmido pKR1776 se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4: amiARN precursores y construcciones de expresión de amiARN para secuencias génicas biosintéticas de ácido graso de soja dirigidas para silenciamiento

Familia génica	Precursor de amiARN	Precursor de amiARN SEQ ID NO	Nombre del plásmido	Plásmido SEQ ID NO
GmFad2-1	159-fad2-1b	124	PHP32511	32
GmFad2-1	396b-fad2-1b	125	PHP32510	33
GmFad2-2	159-fad2-2	126	-	-
GmFad2-1 & GmFad2-2	396b-fad2-1b/159- fad2-2	127	PHP32843	34
GmSad	396b-sad3	128	-	-
GmFad2-1 & GmSad	396b-fad2-1b/396b- sad3	129	PHP33705	35
GmFad3	159-fad3c	130	PHP38557	36
GmFatB	159-fatBF	131	PHP41103	37
GmFad3	159-fad3c	130	pKR1756	38
GmFatB	159-fatBF	131	pKR1757	39
GmFad3 & GmFatB	159-fad3c/159-fatBF	132	pKR1766	40
GmFatB & GmFad3	159-fatBF/159-fad3c	133	pKR1771	41
GmFad2-1 & GmFatB & GmFad3	159-fad2-1b/159- fatBF/159-fad3c	134	PHP41784	42
GmFad2-1 & GmFatB & GmFad3	396b-fad2-1b/159- fatB/159-fad3c	135	pKR1776	43

De la Tabla 4, el precursor de amiARN 159-fad2-1b (SEQ ID NO: 124) tiene 958 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN GM-MFAD2-1B (SEQ ID NO: 21) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star 159-GM-MFAD2-1 B (SEQ ID NO: 26).

- 5 De la Tabla 4, el precursor de amiARN 396-fad2-1b (SEQ ID NO: 124) tiene 574 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 153 donde los nucleótidos 196 a 216 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN GM-MFAD2-1 B (SEQ ID NO: 21) y donde los nucleótidos 262 a 282 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por la secuencia Star 396b-GM-MFAD2-1 B (SEQ ID NO: 26).

- 10 De la Tabla 4, el precursor de amiARN 159-fad2-2 (SEQ ID NO: 126) tiene 958 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN GM-MFAD2-2 (SEQ ID NO: 22) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star 159-GM-MFAD2-2 (SEQ ID NO: 28).

- 15 De la Tabla 4, el precursor de amiARN 396b-fad2-1 b/159-fad2-2 (SEQ ID NO: 127), que combina los precursores de amiARN 396b-fad2-1 b (SEQ ID NO: 126) y 159-fad2-2 (SEQ ID NO: 127) en una unidad transcripcional, tiene 1568 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 153 (de nt 1 a 574 de 396b-fad2-1 b/159-fad2-2) donde los nucleótidos 196 a 216 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN GM-MFAD2-1 B (SEQ ID NO: 21) y donde los nucleótidos 262 a 282 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por la secuencia Star 396b-GM-MFAD2-1 B (SEQ ID NO: 26). El precursor de amiARN 396b-fad2-1 b/159-fad2-2 (SEQ ID NO: 127) también es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 (de nt 611 a 1568 de 396b-fad2-1 b/159-fad2-2) donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN GM-MFAD2-2 (SEQ ID NO: 22) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star 159-GM-MFAD2-2 (SEQ ID NO: 28). En el precursor de amiARN 396b-fad2-1b/159-fad2-2, los nt 575 a 610 derivan de clonación.

- 25 De la Tabla 4, el precursor de amiARN 396b-sad3 (SEQ ID NO: 128) tiene 574 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 153 donde los nucleótidos 196 a 216 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN GM-MSAD3 (SEQ ID NO: 23) y donde los nucleótidos 262 a 282 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por la secuencia Star de amiARN GM-MSAD3 (SEQ ID NO: 29).

- 30 De la Tabla 4, el precursor de amiARN 396b-fad2-1b/396b-sad3 (SEQ ID NO: 129), que combina los precursores de amiARN 396b-fad2-1 b (SEQ ID NO: 126), y 396b-sad3 (SEQ ID NO: 128) en una unidad transcripcional, tiene 1184 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 153 (de nt 1 a 574 de 396b-fad2-1b/396b-sad3) donde los nucleótidos 196 a 216 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN GM-MFAD2-1B (SEQ ID NO: 21) y donde los nucleótidos 262 a 282 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por la secuencia Star 396b-GM-MFAD2-1 B (SEQ ID NO: 26). El precursor de amiARN 396b-fad2-1 b/396b-sad3 (SEQ ID NO: 129) también es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 153 (de nt 611 a 1184 de 396b-fad2-1 b/396b-sad) donde los nucleótidos 196 a 216 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por amiARN GM-MSAD3 (SEQ ID NO: 23) y donde los nucleótidos 262 a 282 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por la secuencia Star GM-MSAD3 (SEQ ID NO: 29). En el precursor de amiARN 396b-fad2-1 b/396b-sad3, los nt 575 a 610 derivan de clonación.

- 40 De la Tabla 4, el precursor de amiARN 159-fad3c (SEQ ID NO: 130) tiene 958 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN GM-MFAD3C (SEQ ID NO: 24) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star GM-MFAD3C (SEQ ID NO: 30).

- 45 De la Tabla 4, el precursor de amiARN 159-fatBF (SEQ ID NO: 131) tiene 958 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN GM-MFATBF (SEQ ID NO: 25) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star GM-MFATBF (SEQ ID NO: 31).

- 50 De la Tabla 4, el precursor de amiARN 159-fad3c/159-fatBF (SEQ ID NO: 132), que combina los precursores de amiARN 159-fad3c (SEQ ID NO: 130) y 159-fatBF (SEQ ID NO: 131) en una unidad transcripcional, tiene 1924 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 (de nt 1 a 958 de 159-fad3c/159-fatBF) donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN GM-MFAD3C (SEQ ID NO: 24) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star GM-MFAD3C (SEQ ID NO: 30). El precursor de amiARN 159-fad3c/159-fatBF (SEQ ID NO: 132) también es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 (de nt 967 a 1924 de 159-fad3c/159-fatBF) donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN GM-MFATBF (SEQ ID NO: 25) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star 159-GM-MFATBF (SEQ ID NO: 31). En el precursor de amiARN 159-fad3c/159-fatBF, los nt 959 a 966 derivan de clonación.

De la Tabla 4, el precursor de amiARN 159-fatBF/159-fad3c (SEQ ID NO: 133), que combina los precursores de

amiARN 159-fatBF (SEQ ID NO: 131) y 159-fad3c (SEQ ID NO: 130) en una unidad transcripcional, tiene 1924 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 (de nt 1 a 958 de 159-fatBF/159-fad3c) donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN GM-MFATBF (SEQ ID NO: 25) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star GM-MFATBF (SEQ ID NO: 31). El precursor de amiARN 159-fatBF/159-fad3c (SEQ ID NO: 133) también es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 (de nt 967 a 1924 de 159-fatBF/159-fad3c) donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN GM-MFAD3C (SEQ ID NO: 24) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star GM-MFAD3C (SEQ ID NO: 30). En el precursor de amiARN 159-fatBF/159-fad3c, los nt 959 a 966 derivan de clonación.

De la Tabla 4, el precursor de amiARN 159-fad2-1b/159-fatBF/159-fad3c (SEQ ID NO: 134), que combina los precursores de amiARN 159-fad2-1 b (SEQ ID NO: 124), 159-fatBF (SEQ ID NO: 131) y 159-fad3c (SEQ ID NO: 130) en una unidad transcripcional, tiene 2886 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 (de nt 1 a 958 de 159-fad2-1b/159-fatBF/159-fad3c) donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN GM-MFAD2-1 B (SEQ ID NO: 21) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star 159-GM-MFAD2-1B (SEQ ID NO: 26). El precursor de amiARN 159-fad2-1b/159-fatBF/159-fad3c (SEQ ID NO: 134) también es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 (de nt 965 a 1922 de 159-fad2-1 b/159-fatBF/159-fad3c) donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN GM-MFATBF (SEQ ID NO: 25) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star GM-MFATBF (SEQ ID NO: 31). El precursor de amiARN 159-fad2-1b/159-fatBF/159-fad3c (SEQ ID NO: 134) también es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 (de nt 1929 a 2886 de 159-fad2-1b/159-fatBF/159-fad3c) donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN GM-MFAD3C (SEQ ID NO: 24) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star GM-MFAD3C (SEQ ID NO: 30). En el precursor de amiARN 159-fad2-1 b/159-fatBF/159-fad3c (SEQ ID NO: 134), los nt 959 a 964 y 1923 a 1928 derivan de clonación.

De la Tabla 4, el precursor de amiARN 396b-fad2-1 b/159-fatBF/159-fad3c (SEQ ID NO: 135), que combina los precursores de amiARN 396b-fad2-1 b (SEQ ID NO: 125), 159-fatBF (SEQ ID NO: 131) y 159-fad3c (SEQ ID NO: 130) en una unidad transcripcional, tiene 2543 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 153 (de nt 1 a 574 de 396b-fad2-1b/159-fatBF/159-fad3c) donde los nucleótidos 196 a 216 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN GM-MFAD2-1 B (SEQ ID NO: 21) y donde los nucleótidos 262 a 282 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por la secuencia Star 396b-GM-MFAD2-1 B (SEQ ID NO: 26). El precursor de amiARN 396b-fad2-1 b/159-fatBF/159-fad3c (SEQ ID NO: 135) también es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 (de los nt 620 a 1577 e 396b-fad2-1 b/159-fatBF/159-fad3c) donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN GM-MFATBF (SEQ ID NO: 25) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star GM-MFATBF (SEQ ID NO: 31). El precursor de amiARN 396b-fad2-1b/159-fatBF/159-fad3c (SEQ ID NO: 135) también es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 (de los nt 1586 a 2543 e 396b-fad2-1 b/159-fatBF/159-fad3c) donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN GM-MFAD3C (SEQ ID NO: 24) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star GM-MFAD3C (SEQ ID NO: 30). En el precursor de amiARN 396b-fad2-1b/159-fatBF/159-fad3c (SEQ ID NO: 135), los nt 575 a 619 y 1578 a 1585 derivan de clonación.

Ejemplo 4

Expresión de amiARN para silenciamiento de genes biosintéticos de ácidos grasos de soja en embriones somáticos de soja

Los plásmidos pKR1756 (SEQ ID NO: 38), pKR1757 (SEQ ID NO: 39), pKR1766 (SEQ ID NO: 40), pKR1771 (SEQ ID NO: 41) y pKR1776 (SEQ ID NO: 43) se transformaron en cultivos de suspensión embriogénica de soja (cv. Jack o 93B86) tal como se describe más adelante.

Inicio de cultivo de suspensión embriogénica de soja:

Los cultivos de soja se iniciaron dos veces cada mes con 5-7 días entre cada inicio. Las vainas con semillas inmaduras de plantas de soja disponibles 45-55 días luego de ser plantadas se recogieron, se quitaron de sus cáscaras y se colocaron en una caja magenta esterilizada. Las semillas de soja se esterilizaron al sacudirlas durante 15 minutos en una solución de Clorox al 5% con 1 gota de jabón ivory (es decir, 95 mL de agua destilada sometida a autoclave más 5 mL de Clorox y 1 gota de jabón, bien mezclado). Las semillas se enjuagaron utilizando 2 botellas de 1 litro de agua destilada estéril y aquellas de menos de 4 mm se colocaron en portaobjetos de microscopio individuales. El extremo pequeño de la semilla se cortó y las cotiledóneas se presionaron fuera del tegumento. Las cotiledóneas se transfirieron a placas que contienen medio SB199 (25-30 cotiledóneas por placa) durante 2 semanas, luego se transfirieron a SB1 durante 2-4 semanas. Las placas se envolvieron con cinta de fibra. Luego de

esta vez, los embriones secundarios se cortaron y se colocaron en medio líquido SB196 durante 7 días.

Condiciones de cultivo

5 Los cultivos de suspensión embriogénica de soja (cv. Jack) se mantuvieron en 35 mL de medio líquido SB196 (*infra*) en un agitador rotatorio, 150 rpm, 26 °C con luces fluorescentes blancas frías en un fotoperíodo de 16:8 h día/noche a intensidad de luz de 60-85 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$. Los cultivos se subcultivaron cada 7 días a dos semanas al inocular aproximadamente 35 mg de tejido en 35 mL de líquido fresco SB196 (el intervalo de subcultivo preferido es cada 7 días).

Preparación de ADN para bombardeo:

10 Los plásmidos pKR1756 (SEQ ID NO: 38), pKR1757 (SEQ ID NO: 39), pKR1766 (SEQ ID NO: 40), pKR1771 (SEQ ID NO: 41) y pKR1776 (SEQ ID NO: 43) se prepararon para transformación de la siguiente manera.

15 Una alícuota de 50 μL de agua destilada estéril que contiene 1 mg de partículas de oro se agregó a 5 μL de una solución de ADN de 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 50 μL de CaCl_2 2.5M y 20 μL de espermidina 0.1 M. La mezcla se pulsó 5 veces en nivel 4 de un agitador de vórtice y se gira durante 5 segundos en una microcentrífuga de banco. Luego de un lavado con 150 μL de etanol al 100%, el sedimento se suspendió mediante sonicación en 85 μL de etanol al 100%. Se dispensaron cinco μL de suspensión de ADN en cada disco volador del disco del aparato Biolistic PDS1000/HE. Cada alícuota de 5 μL contenía aproximadamente 0.058 mg de partículas de oro por bombardeo (es decir, por disco).

Preparación de tejido y bombardeo con ADN:

20 Los cultivos de suspensión embriogénica de soja se transformaron mediante el método de bombardeo con pistola de partículas (Klein et ál., Nature 327:70 (1987)) utilizando un instrumento DuPont Biolistic PDS1000/HE (adaptación de helio) para todas las transformaciones.

25 Se colocaron aproximadamente 100-150 mg de cultivos de suspensión embrionaria de 7 días en una placa de Petri vacía, estéril de 60 x 15 mm y la placa se colocó dentro de una placa de Petri vacía de 150 x 25 mm. El tejido se bombardeó 1 dosis por placa con presión de ruptura de membrana establecida a 650 PSI y la cámara se evacuó a un vacío de 27-28 pulgadas de mercurio. El tejido se colocó aproximadamente 2.5 pulgadas de la pantalla de retención/detención.

Selección de embriones transformados:

30 Se seleccionaron embriones transformados utilizando higromicina como el marcador seleccionable. Específicamente, luego del bombardeo, el tejido se colocó en medio SB196 fresco y se cultivó como se describe anteriormente. Seis a ocho días luego del bombardeo, el SB196 se intercambia con SB196 fresco que contiene higromicina 30 mg/L. El medio de selección se renovó semanalmente. Cuatro a seis semanas luego de la selección, se observó tejido transformado verde creciendo de agrupaciones embriogénicas necróticas sin transformar. Se quitó tejido verde aislado y se inoculó en placas de múltiples pocillos para generar nuevos cultivos de suspensión embriogénica transformados, propagados de forma clonal.

35 Maduración de embriones:

40 Se cultivaron agrupaciones embriogénicas transformadas durante una-tres semanas a 26 °C en SB196 bajo bombillas fluorescentes blancas frías (Econowatt blanca fría Phillips F40/CW/RS/EW) y Agro (Phillips F40 Agro) (40 watt) en un fotoperíodo de 16:8 hr con intensidad de luz de 90-120 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$. Se quitaron agrupaciones de embriones al medio líquido SB228 (SHaM), 35 mL en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, durante 2-3 semanas. El tejido cultivado en SB228 se mantuvo en un agitador rotatorio, 130 rpm, 26 °C con luces fluorescentes blancas frías en un fotoperíodo de 16:8 h día/noche a intensidad de luz de 60-85 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$. Durante este período, los embriones individuales se quitaron de las agrupaciones y se analizaron en busca de alteraciones en sus composiciones de ácidos grasos tal como se describe anteriormente. Fórmulas de medios:

Medio de proliferación líquido FN Lite - SB 196 (por litro)

MS FeEDTA - solución madre 100x 1	10 mL
MS Sulfato - solución madre 100x 2	10 mL
FN Lite Haluros - solución madre 100x 3	10 mL
FN Lite P, B, Mo - solución madre 100x 4	10 mL
vitaminas B5 (1 mL/L)	1,0 mL
2,4-D (10mg/L concentración final)	1,0 mL
KNO_3	2,83 gm

ES 2 635 115 T3

Medio de proliferación líquido FN Lite - SB 196 (por litro)

(NH ₄) ₂ SO ₄	0,463 gm
Asparagina	1,0 gm
Sacarosa (1%)	10 gm
pH 5.8	

Soluciones madre FN Lite

Número de solución madre		1000 mL	500 mL
1	<i>MS Fe EDTA solución madre 100x</i>		
	Na ₂ EDTA *	3,724 g	1,862 g
	FeSO ₄ - 7H ₂ O	2,784 g	1,392 g
	*Agregar primero, disolver en botella oscura mientras se agita		
	MS Sulfato solución madre 100x		
2	MgSO ₄ - 7H ₂ O	37,0 g	18,5 g
	MnSO ₄ - H ₂ O	1,69 g	0,845 g
	ZnSO ₄ - 7H ₂ O	0,86 g	0,43 g
	CuSO ₄ - 5H ₂ O	0,0025 g	0,00125 g
3	<i>FN Lite Haluros solución madre 100x</i>		
	CaCl ₂ - 2H ₂ O	30,0 g	15,0 g
	KI	0,083 g	0,0715 g
	CoCl ₂ - 6H ₂ O	0,0025 g	0,00125 g
4	<i>FN Lite P, B, Mo solución madre 100x</i>		
	KH ₂ PO ₄	18,5 g	9,25 g
	H ₃ BO ₃	0,62 g	0,31 g
	Na ₂ MoO ₄ - 2H ₂ O	0,025 g	0,0125 g

medio sólido SB1 (por litro)

1 paquete de sales MS (Gibco/ BRL - n.º de cat. 11117-066)

1 mL de vitaminas B5 solución madre 1000X

5 31,5 g de glucosa

2 mL de 2,4-D (20 mg/L concentración final)

pH 5.7

8 g TC agar

medio sólido SB199 (por litro)

10 1 paquete de sales MS (Gibco/ BRL - n.º de cat. 11117-066)

1 mL de vitaminas B5 solución madre 1000X

30g sacarosa

4 ml de 2,4-D (40 mg/L concentración final)

pH 7.0

- 2 gm Gelrite
medio sólido SB 166 (por litro)
 1 paquete de sales MS (Gibco/ BRL - n.º de cat. 11117-066)
 1 mL de vitaminas B5 solución madre 1000X
- 5 60 g maltosa
 750 mg MgCl₂ hexahidrato
 5 g carbón activado
 pH 5.7
 2 g Gelrite
- 10 medio sólido SB 103 (por litro)
 1 paquete de sales MS (Gibco/ BRL - n.º de cat. 11117-066)
 1 mL de vitaminas B5 solución madre 1000X
 60 g maltosa
 750 mg MgCl₂ hexahidrato
- 15 pH 5.7
 2 g Gelrite
medio sólido SB 71-4 (por litro)
 1 botella de sales B5 de Gamborg con sacarosa (Gibco/ BRL - n.º de cat. 21153-036)
 pH 5.7
- 20 5 g TC agar
2,4-D solución madre
 Obtener previamente preparado de Phytotech n.º de cat. D 295 - concentración 1 mg/mL
solución madre de vitaminas B5 (por 100 mL)
 Almacenar las alícuotas a -20 °C
- 25 10 g Myo-inositol
 100 mg ácido nicotínico
 100 mg HCl de piridoxina
 1 g Tiamina
- 30 Si la solución no se disuelve lo suficientemente rápido, aplicar un nivel bajo de calor mediante la placa de agitación caliente.
SB 228- Histodiferenciación de soja & Maduración (SHaM) (por litro)
- | | |
|--------------------------------------|---------|
| DDI H ₂ O | 600 ml |
| Macro Sales para SHaM 10X de FN-Lite | 100 ml |
| MS Micro Sales 1000x | 1ml |
| MS FeEDTA 100x | 10 ml |
| CaCl 100x | 6,82 ml |
| Vitaminas B5 1000x | 1 ml |

ES 2 635 115 T3

L-Metionina	0,149g
Sacarosa	30 g
Sorbitol	30 g

Ajustar volumen a 900 mL

pH 5.8

Autoclave

Agregar a medio enfriado ($\leq 30^{\circ}\text{C}$):

*Glutamina (conc. final 30 mM) 4%	110 mL
-----------------------------------	--------

*Nota: El volumen final será 1010 mL luego de la adición de glutamina.

Dado que la glutamina se degrada rápidamente, puede ser preferible agregarla inmediatamente antes de usar el medio. Expira 2 semanas luego de que se agrega la glutamina; el medio base se puede mantener más tiempo sin glutamina.

FN-lite Macro para SHAM 10X- Solución madre #1 (por litro)

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Sulfato de amonio)	4,63 g
KNO_3 (Nitrato de potasio)	28,3 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Heptahidrato de sulfato de magnesio)	3,7 g
KH_2PO_4 (Fosfato de potasio, monobásico)	1,85 g
Enrasar	
Autoclave	

5 MS Micro 1000X- Solución madre #2 (por 1 litro)

H_3BO_3 (ácido bórico)	6,2 g
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (monohidrato de sulfato de manganeso)	16,9 g
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Heptahidrato de sulfato de cinc)	8,6 g
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (dihidrato de molibdato de sodio)	0,25 g
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (pentahidrato de sulfato de cobre)	0,025 g
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (hexahidrato de cloruro de cobalto)	0,025 g
KI (yoduro de potasio)	0,8300 g
Enrasar	
Autoclave	

FeEDTA 100X- Solución madre #3 (por litro)

Na_2EDTA^* (EDTA de sodio)	3,73 g
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Heptahidrato de sulfato de hierro)	2,78 g

*EDTA) se debe disolver completamente antes de agregar hierro.

Enrasar

La solución es fotosensible. Las botellas se deberían envolver en aluminio para omitir la luz.

Autoclave

10 Ca 100X- Solución madre #4 (por litro)

CaCl₂*2H₂O (Dihidrato de cloruro de calcio) 44 g

Enrasar

Autoclave

Vitamina B5 1000X- Solución madre #5 (por litro)

Tiamina*HCl 10 g

ácido nicotínico 1 g

Piridoxina*HCl 1 g

Mio-inositol 100 g

Enrasar

Almacenar congelado

4% Glutamina- Solución madre #6 (por litro)

DDI agua calentada a 30 °C 900 ml

L-Glutamina 40 g

Agregar gradualmente mientras se agita y aplicando calor bajo.

No exceder 35 °C.

Enrasar

Esterilizar con filtro

Almacenar congelado *

*Nota: Calentar la solución madre descongelada en un baño a 31 °C para disolver completamente los cristales.

Análisis funcional en embriones de soja somáticos

5 Los embriones de soja somáticos maduros son un buen modelo para los embriones cigóticos. Mientras se encuentra en el estado embrionario globular en cultivo líquido, los embriones de soja somáticos contienen muy pocas cantidades de triacilglicerol (TAG) o proteínas de almacenamiento típicas de embriones de soja cigóticos en maduración. En esta etapa de desarrollo, la relación de triacilglicéridos totales respecto a los lípidos polares totales (fosfolípidos y glicolípidos) es de alrededor de 1:4, como es típico de los embriones de soja cigóticos en la etapa de desarrollo de la cual se inició el cultivo de embriones somáticos. En la etapa globular también, los ARNm para las

10 proteínas de semillas prominentes, la subunidad α' de β-conglicinina, el inhibidor de la tripsina de kunitz 3, y la lectina de semilla están esencialmente ausentes. Luego de la transferencia al medio libre de hormonas para permitir la diferenciación con el estado embrionario somático en maduración, TAG se vuelve la clase de lípido más abundante. Además, los ARNm para la subunidad α' de β-conglicinina, el inhibidor de la tripsina de kunitz 3 y la

15 lectina de semilla se vuelven mensajes muy abundantes en la población de ARNm total. Por este motivo, el sistema de embriones de soja somáticos se comporta muy similarmente a los embriones de soja cigóticos en maduración in vivo, y es por lo tanto un sistema modelo bueno y rápido para analizar los efectos fenotípicos de modificación de la expresión de genes en la vía de biosíntesis de ácidos grasos (ver la publicación PCT n.º WO 2002/00904). El sistema modelo también predice la composición de ácidos grasos de semillas de plantas que derivan de embriones transgénicos.

20 Análisis de ácidos grasos:

Los embriones somáticos se cultivaron luego de dos semanas de cultivo en el medio líquido del medio de maduración líquido SB228 (SHaM). Aproximadamente 30 eventos se crearon en transformaciones con plásmidos pKR1756 (SEQ ID NO: 38), pKR1757 (SEQ ID NO: 39), pKR1766 (SEQ ID NO: 40), pKR1771 (SEQ ID NO: 41) y pKR1776 (SEQ ID NO: 43), con nombres de experimento MSE2887, MSE2888, MSE2889, MSE2890 y MSE2723, respectivamente.

25 Todos los embriones generados para un evento dado se cultivaron a granel y se procesaron de la siguiente forma. Aproximadamente 10-20 embriones se congelaron mediante incubación en un congelador a -80 °C durante 24 horas seguido por liofilización durante 48 horas.

30 Los embriones secos se molieron hasta lograr un polvo fino utilizando un vial GenoGrinder (1/2"X 2" policarbonato) y una bola de acero (SPEX Centriprep (Metuchen, N.J., EUA). El tiempo de molido fue 30 segundos a 1450 oscilaciones por minuto.

Los lípidos de aproximadamente 20-50 mg de polvo de embriones secos se transesterificaron en ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) y se analizaron mediante GC tal como se describe en la publicación PCT n.º WO 2008/147935.

- 5 Brevemente, 50 µL del reactivo de hidróxido de trimetilsulfonio (TMSH) y 0.5 mL de hexano se agregaron al polvo de embriones secos en viales GC de vidrio y se incubaron durante 30 minutos a temperatura ambiente mientras se agitaba. Los ésteres metílicos de ácidos grasos (1 µL inyectado de la capa de hexano) se separaron y cuantificaron utilizando un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard 6890 equipado con una columna capilar de sílice fusionada de Omegawax 320 (n.º de catálogo 24152, Supelco Inc.). La temperatura del horno se programó para mantenerse a 220 °C durante 2.6 min, aumentar a 240 °C a 20 °C/min y luego mantenerse durante unos 2.4 minutos adicionales.
- 10 El gas portador fue suministrado por un generador de hidrógeno Whatman. Los tiempos de retención se compararon con aquellos para ésteres de metilo de estándares comercialmente disponibles (Nu-Chek Prep, Inc.).

- 15 Los perfiles de ácidos grasos resultantes para eventos de MSE2887, MSE2888, MSE2889, MSE2890 y MSE2723 están resumidos en la TABLA 5. En la TABLA 5, los ácidos grasos se identifican como 16:0 (palmitato), 18:0 (ácido esteárico), 18:1 (ácido oleico), 18:2 (ácido linoleico) y 18:3 (ácido alfa-linolénico) y se expresan como un por ciento en peso (% en p.) de ácidos grasos totales. Para MSE2887 y MSE2889 los resultados se clasifican 18:3 en orden ascendente. Para MSE2888, MSE2890 y MSE2723, los resultados se clasifican en 16:0 en orden ascendente. El perfil de ácido graso promedio para todos los eventos para cada experimento se muestra como prom.

Tabla 5: Perfiles de ácidos grasos para MSE2887, MSE2888, MSE2889, MSE2890 y MSE2723

Evento	Construcción	amiARN	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
MSE2887-12	pKR1756	fad3	16,8	5,5	19,4	53,1	5,1
MSE2887-8	pKR1756	fad3	16,2	5,9	22,0	50,5	5,5
MSE2887-24	pKR1756	fad3	17,2	7,2	23,5	46,6	5,5
MSE2887-13	pKR1756	fad3	17,7	5,5	20,0	51,1	5,8
MSE2887-23	pKR1756	fad3	17,7	5,8	21,2	49,1	6,2
MSE2887-30	pKR1756	fad3	17,0	6,4	21,6	47,4	7,6
MSE2887-28	pKR1756	fad3	17,9	6,0	15,1	53,4	7,6
MSE2887-9	pKR1756	fad3	17,3	5,7	20,2	48,8	8,0
MSE2887-29	pKR1756	fad3	16,5	4,7	15,1	55,5	8,1
MSE2887-25	pKR1756	fad3	16,6	5,1	19,4	50,6	8,2
MSE2887-16	pKR1756	fad3	17,6	5,9	19,4	48,7	8,4
MSE2887-6	pKR1756	fad3	17,1	5,3	18,9	49,8	8,9
MSE2887-11	pKR1756	fad3	16,0	6,6	21,3	46,6	9,5
MSE2887-18	pKR1756	fad3	16,3	6,1	21,7	45,8	10,0
MSE2887-27	pKR1756	fad3	16,2	7,1	23,8	42,6	10,2
MSE2887-19	pKR1756	fad3	16,5	4,9	20,2	47,0	11,4
MSE2887-31	pKR1756	fad3	17,4	5,8	17,6	47,6	11,5
MSE2887-2	pKR1756	fad3	16,4	5,2	18,9	46,9	12,6
MSE2887-22	pKR1756	fad3	17,4	5,9	20,1	43,5	13,1
MSE2887-14	pKR1756	fad3	16,2	6,3	21,1	43,3	13,2
MSE2887-4	pKR1756	fad3	14,2	5,4	21,9	45,0	13,4
MSE2887-17	pKR1756	fad3	16,6	4,9	13,4	51,3	13,8
MSE2887-1	pKR1756	fad3	17,5	5,0	17,0	46,4	14,1
MSE2887-26	pKR1756	fad3	17,7	5,4	14,1	48,1	14,7
MSE2887-21	pKR1756	fad3	17,8	6,0	17,3	43,6	15,4

ES 2 635 115 T3

Evento	Construcción	amiARN	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
MSE2887-20	pKR1756	fad3	17,9	5,1	12,1	49,2	15,6
MSE2887-15	pKR1756	fad3	17,9	6,4	16,5	43,6	15,7
MSE2887-10	pKR1756	fad3	17,3	4,8	16,9	45,2	15,7
MSE2887-5	pKR1756	fad3	17,6	5,2	18,5	42,7	16,1
MSE2887-3	pKR1756	fad3	18,4	4,8	14,4	45,5	16,8
MSE2887-7	pKR1756	fad3	16,5	5,1	18,4	41,9	18,1
Promedio			17,0	5,6	18,7	47,4	11,2
MSE2888-12	pKR1757	fatBF	4,7	3,6	22,9	56,7	12,1
MSE2888-30	pKR1757	fatBF	5,3	3,7	22,0	56,9	12,2
MSE2888-27	pKR1757	fatBF	6,1	5,4	28,0	46,9	13,5
MSE2888-26	pKR1757	fatBF	6,6	4,3	22,4	55,3	11,4
MSE2888-22	pKR1757	fatBF	6,8	4,6	21,5	54,5	12,7
MSE2888-28	pKR1757	fatBF	6,9	4,5	22,7	51,4	14,4
MSE2888-13	pKR1757	fatBF	7,5	4,2	21,9	55,2	11,2
MSE2888-2	pKR1757	fatBF	7,6	5,0	26,0	46,9	14,6
MSE2888-21	pKR1757	fatBF	7,8	4,3	23,8	52,0	12,0
MSE2888-15	pKR1757	fatBF	7,9	3,7	21,4	55,3	11,6
MSE2888-31	pKR1757	fatBF	8,1	5,5	30,3	44,3	11,7
MSE2888-11	pKR1757	fatBF	8,4	5,1	24,2	48,8	13,5
MSE2888-20	pKR1757	fatBF	8,7	5,2	23,2	48,0	14,9
MSE2888-18	pKR1757	fatBF	8,8	6,6	26,6	46,1	11,9
MSE2888-14	pKR1757	fatBF	8,8	4,2	20,9	53,9	12,3
MSE2888-29	pKR1757	fatBF	9,4	6,1	28,0	44,4	12,2
MSE2888-16	pKR1757	fatBF	9,4	4,8	23,0	49,7	13,0
MSE2888-19	pKR1757	fatBF	9,6	5,3	22,4	48,5	14,3
MSE2888-23	pKR1757	fatBF	9,7	5,0	22,7	47,9	14,8
MSE2888-6	pKR1757	fatBF	11,5	5,5	21,3	50,5	11,2
MSE2888-17	pKR1757	fatBF	12,3	4,4	20,6	49,4	13,3
MSE2888-5	pKR1757	fatBF	13,3	5,3	21,4	47,7	12,3
MSE2888-10	pKR1757	fatBF	13,5	5,5	22,6	45,9	12,4
MSE2888-9	pKR1757	fatBF	14,5	6,6	28,3	37,6	13,0
MSE2888-3	pKR1757	fatBF	15,0	8,0	25,4	39,2	12,5
MSE2888-25	pKR1757	fatBF	15,1	6,1	23,8	42,1	13,0
MSE2888-8	pKR1757	fatBF	15,1	6,7	26,1	40,9	11,2
MSE2888-1	pKR1757	fatBF	15,5	6,9	24,2	41,2	12,2
MSE2888-7	pKR1757	fatBF	16,0	5,3	20,2	46,6	11,9
MSE2888-4	pKR1757	fatBF	16,4	4,9	20,1	45,5	13,2
MSE2888-24	pKR1757	fatBF	16,5	5,1	19,3	46,4	12,7

Evento	Construcción	amiARN	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
Promedio			10,4	5,2	23,4	48,2	12,7
MSE2889-7	pKR1766	fad3/fatBF	6,9	3,8	22,9	60,6	5,9
MSE2889-8	pKR1766	fad3/fatBF	7,3	3,4	22,6	60,8	5,9
MSE2889-16	pKR1766	fad3/fatBF	9,5	4,3	21,9	57,6	6,7
MSE2889-3	pKR1766	fad3/fatBF	16,4	5,2	19,2	52,4	6,8
MSE2889-15	pKR1766	fad3/fatBF	12,5	5,5	23,0	51,8	7,1
MSE2889-1	pKR1766	fad3/fatBF	11,3	4,9	22,8	53,7	7,2
MSE2889-2	pKR1766	fad3/fatBF	8,7	5,6	27,5	51,0	7,2
MSE2889-31	pKR1766	fad3/fatBF	10,4	4,2	19,2	58,8	7,3
MSE2889-18	pKR1766	fad3/fatBF	9,9	4,1	19,3	59,4	7,4
MSE2889-20	pKR1766	fad3/fatBF	9,2	4,3	21,5	57,5	7,5
MSE2889-14	pKR1766	fad3/fatBF	11,5	5,3	23,5	51,8	7,9
MSE2889-29	pKR1766	fad3/fatBF	11,1	4,4	19,8	56,6	8,1
MSE2889-9	pKR1766	fad3/fatBF	9,5	4,1	21,6	56,6	8,2
MSE2889-12	pKR1766	fad3/fatBF	10,7	4,1	20,1	56,8	8,2
MSE2889-11	pKR1766	fad3/fatBF	11,3	4,7	20,4	54,0	9,5
MSE2889-10	pKR1766	fad3/fatBF	11,5	4,9	24,3	49,7	9,6
MSE2889-19	pKR1766	fad3/fatBF	11,8	5,2	23,3	49,5	10,2
MSE2889-23	pKR1766	fad3/fatBF	13,7	6,4	23,3	46,4	10,2
MSE2889-13	pKR1766	fad3/fatBF	12,7	4,2	20,4	52,3	10,3
MSE2889-22	pKR1766	fad3/fatBF	13,9	6,0	22,2	47,5	10,3
MSE2889-28	pKR1766	fad3/fatBF	12,0	4,9	22,7	50,0	10,4
MSE2889-30	pKR1766	fad3/fatBF	16,0	4,6	18,9	49,7	10,7
MSE2889-4	pKR1766	fad3/fatBF	12,4	5,9	23,6	46,9	11,1
MSE2889-26	pKR1766	fad3/fatBF	16,3	5,0	19,5	47,7	11,5
MSE2889-6	pKR1766	fad3/fatBF	14,9	5,8	20,9	46,7	11,7
MSE2889-5	pKR1766	fad3/fatBF	15,8	5,6	21,0	45,9	11,7
MSE2889-21	pKR1766	fad3/fatBF	15,4	4,2	19,9	48,5	12,0
MSE2889-17	pKR1766	fad3/fatBF	15,7	6,7	21,9	43,6	12,0
MSE2889-25	pKR1766	fad3/fatBF	16,4	5,2	19,8	46,3	12,2
MSE2889-24	pKR1766	fad3/fatBF	15,6	6,0	22,3	43,5	12,6
MSE2889-27	pKR1766	fad3/fatBF	15,9	5,5	20,0	44,0	14,7
Promedio			12,5	5,0	21,6	51,5	9,4
MSE2890-14	pKR1771	fatBF/fad3	5,0	3,2	21,9	55,6	14,3
MSE2890-29	pKR1771	fatBF/fad3	6,7	5,3	25,7	55,5	6,8
MSE2890-17	pKR1771	fatBF/fad3	7,3	5,2	27,9	46,3	13,3
MSE2890-13	pKR1771	fatBF/fad3	7,6	5,0	24,8	50,1	12,6

ES 2 635 115 T3

Evento	Construcción	amiARN	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
MSE2890-6	pKR1771	fatBF/fad3	7,8	3,8	20,9	58,8	8,7
MSE2890-5	pKR1771	fatBF/fad3	8,3	3,7	22,7	54,7	10,7
MSE2890-10	pKR1771	fatBF/fad3	9,0	4,5	22,0	54,5	9,9
MSE2890-12	pKR1771	fatBF/fad3	9,3	5,3	23,0	52,7	9,7
MSE2890-26	pKR1771	fatBF/fad3	9,3	4,8	22,8	53,5	9,5
MSE2890-19	pKR1771	fatBF/fad3	10,2	5,5	23,2	51,8	9,4
MSE2890-1	pKR1771	fatBF/fad3	10,8	5,2	21,3	51,1	11,6
MSE2890-9	pKR1771	fatBF/fad3	10,8	5,4	22,7	47,6	13,4
MSE2890-23	pKR1771	fatBF/fad3	11,0	4,2	19,3	55,1	10,5
MSE2890-24	pKR1771	fatBF/fad3	11,4	5,9	23,4	50,4	8,8
MSE2890-30	pKR1771	fatBF/fad3	11,6	3,8	20,2	53,3	11,2
MSE2890-16	pKR1771	fatBF/fad3	11,6	4,2	18,4	53,4	12,4
MSE2890-15	pKR1771	fatBF/fad3	12,9	4,9	19,7	49,3	13,2
MSE2890-2	pKR1771	fatBF/fad3	13,0	5,6	24,6	47,2	9,6
MSE2890-21	pKR1771	fatBF/fad3	13,8	6,3	23,1	45,6	11,1
MSE2890-18	pKR1771	fatBF/fad3	14,1	4,3	20,4	50,3	10,9
MSE2890-3	pKR1771	fatBF/fad3	15,2	5,6	20,9	45,3	13,0
MSE2890-25	pKR1771	fatBF/fad3	15,6	5,2	21,0	44,8	13,4
MSE2890-4	pKR1771	fatBF/fad3	15,6	5,7	20,9	46,1	11,6
MSE2890-8	pKR1771	fatBF/fad3	15,8	5,5	19,2	42,8	16,6
MSE2890-7	pKR1771	fatBF/fad3	15,9	4,7	19,1	45,8	14,5
MSE2890-11	pKR1771	fatBF/fad3	16,0	6,0	18,8	42,5	16,7
MSE2890-22	pKR1771	fatBF/fad3	16,0	4,2	18,6	47,3	13,9
MSE2890-20	pKR1771	fatBF/fad3	16,2	5,2	19,7	47,3	11,7
MSE2890-27	pKR1771	fatBF/fad3	16,5	6,5	21,0	43,4	12,6
MSE2890-28	pKR1771	fatBF/fad3	16,7	4,4	18,1	48,1	12,6
Promedio			12,0	5,0	21,5	49,7	11,8
MSE2723-14	pKR1776	fad2/fatB/fad3	6,2	2,5	36,3	39,9	15,1
MSE2723-16	pKR1776	fad2/fatB/fad3	6,9	2,7	44,4	37,1	8,9
MSE2723-25	pKR1776	fad2/fatB/fad3	7,5	3,9	49,2	29,6	9,7
MSE2723-18	pKR1776	fad2/fatB/fad3	8,2	2,6	36,4	36,6	16,2
MSE2723-4	pKR1776	fad2/fatB/fad3	8,5	3,5	24,9	52,4	10,7
MSE2723-2	pKR1776	fad2/fatB/fad3	8,7	2,9	32,1	44,1	12,2
MSE2723-13	pKR1776	fad2/fatB/fad3	9,0	5,1	50,6	25,0	10,3
MSE2723-15	pKR1776	fad2/fatB/fad3	9,1	4,4	38,9	37,7	10,0
MSE2723-7	pKR1776	fad2/fatB/fad3	11,0	4,4	25,5	42,8	16,3
MSE2723-12	pKR1776	fad2/fatB/fad3	11,2	5,1	37,2	33,5	13,1
MSE2723-3	pKR1776	fad2/fatB/fad3	11,2	4,6	45,7	28,7	9,7

Evento	Construcción	amiARN	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
MSE2723-26	pKR1776	fad2/fatB/fad3	11,9	4,5	35,2	34,4	14,0
MSE2723-17	pKR1776	fad2/fatB/fad3	11,9	3,9	25,5	40,4	18,2
MSE2723-27	pKR1776	fad2/fatB/fad3	12,4	4,5	26,7	36,2	20,1
MSE2723-22	pKR1776	fad2/fatB/fad3	13,4	5,0	19,9	48,4	13,2
MSE2723-21	pKR1776	fad2/fatB/fad3	13,6	3,4	21,5	40,4	21,1
MSE2723-31	pKR1776	fad2/fatB/fad3	13,7	4,9	17,4	51,5	12,5
MSE2723-6	pKR1776	fad2/fatB/fad3	14,1	4,6	29,0	35,7	16,6
MSE2723-1	pKR1776	fad2/fatB/fad3	14,5	4,1	25,5	39,2	16,7
MSE2723-10	pKR1776	fad2/fatB/fad3	14,7	5,7	30,1	34,7	14,9
MSE2723-30	pKR1776	fad2/fatB/fad3	14,9	5,2	13,8	40,4	25,7
MSE2723-23	pKR1776	fad2/fatB/fad3	15,0	4,3	24,3	43,8	12,6
MSE2723-8	pKR1776	fad2/fatB/fad3	15,7	4,5	12,8	38,8	28,1
MSE2723-28	pKR1776	fad2/fatB/fad3	15,9	3,7	17,0	49,7	13,7
MSE2723-29	pKR1776	fad2/fatB/fad3	16,3	5,2	17,2	44,0	17,3
MSE2723-24	pKR1776	fad2/fatB/fad3	16,3	4,8	17,9	41,8	19,2
MSE2723-9	pKR1776	fad2/fatB/fad3	16,4	3,8	12,8	44,0	23,1
MSE2723-20	pKR1776	fad2/fatB/fad3	16,7	6,3	22,1	36,9	18,0
MSE2723-5	pKR1776	fad2/fatB/fad3	16,8	4,2	15,5	48,1	15,5
MSE2723-11	pKR1776	fad2/fatB/fad3	17,1	5,0	18,0	44,1	15,8
MSE2723-19	pKR1776	fad2/fatB/fad3	17,5	4,1	19,3	45,3	13,7
Promedio			12,8	4,3	27,2	40,2	15,6

Se muestra un resumen de los perfiles de ácidos grasos promedio para cada experimento en la Tabla 6. También se incluye en la Tabla 6 el intervalo de contenido de ácidos grasos para 16:0, 18:1 y 18:3 para cada experimento.

Tabla 6: Perfiles de ácidos grasos promedio para MSE2887, MSE2888, MSE2889, MSE2890 y MSE2723

Experimento	Promedio 16:0	Promedio 18:0	Promedio 18:1	Promedio 18:2	Promedio 18:3	Intervalo 16:0	Intervalo 18:1	Intervalo 18:3
MSE2887	17,0	5,6	18,7	47,4	11,2	14,2-18,4	12,1-23,8	5,1-18,1
MSE2888	10,4	5,2	23,4	48,2	12,7	4,7-16,5	19,3-30,3	11,2-12,7
MSE2889	12,5	5,0	21,6	51,5	9,4	6,9-16,4	18,9-27,5	5,9-14,7
MSE2890	12,0	5,0	21,5	49,7	11,8	5,0-16,7	18,1-27,9	6,8-16,7
MSE2723	12,8	4,3	27,2	40,2	15,6	6,2-17,5	12,8-50,6	8,9-28,1

La Tabla 6 muestra que en todos los experimentos donde el amiARN fad3 está presente, el contenido 18:3 disminuye considerablemente mientras que en MSE2888, el contenido 18:3 se asemeja a aquel para embriones de tipo salvaje. De manera similar, en todos los experimentos donde el amiARN fatB está presente, el contenido 16:0 disminuye considerablemente mientras que en MSE2887, el contenido 16:0 se asemeja al de los embriones de tipo salvaje. Cuando se le agrega ácido oleico al amiARN fad2 los contenidos aumentan considerablemente sobre los que se ven cuando el amiARN fatB, amiARN fad3 o ambos amiARN fatB y fad3 están presentes.

Ejemplo 5

Expresión de amiARN para silenciamiento de genes biosintéticos de ácidos grasos de soja en semillas de soja

Los fragmentos de ADN de plásmidos de PHP32511, que contienen el amiARN 159-fad2-1 b (SEQ ID NO: 32), PHP32510, que contienen el amiARN 396b-fad2-1 b (SEQ ID NO: 33), PHP32843, que contiene los amiARN 369b-fad2-1 b y 159-fad2-2 (SEQ ID NO: 34), PHP33705, que contiene los amiARN 396-fad2-1 b y 396b-sad3 (SEQ ID NO: 35), PHP38557, que contiene el amiARN 159-fad3c (SEQ ID NO: 36) y PHP41103, que contiene el amiARN 159-fatBF (SEQ ID NO: 37) se transformaron en cultivos de suspensión embriogénica de soja (cv. Jack) tal como se describe en el Ejemplo 4.

El fragmento de ADN plásmido de PHP41784 (SEQ ID NO: 42), que contiene los amiARN 159-fad2-1 b, 159-fatBF, 159-fad3c, se transformó en cultivo de suspensión embriogénica de soja (cv. 93B86) también como se describe en el Ejemplo 4.

El ADN se preparó, los embriones transgénicos se maduraron y las plantas transgénicas se obtuvieron tal como se describe debajo.

Preparación de ADN para bombardeo:

Por cada diecisiete transformaciones de bombardeo, se preparan 85 µL de suspensión que contiene de 1 a 90 picogramos (pg) de fragmento purificado del ADN plásmido por pares de base de cada fragmento de ADN. Los fragmentos de ADN se precipitaron conjuntamente en sobre partículas de oro de la siguiente manera. Los ADN en suspensión se agregaron a 50 µL de una suspensión de partículas de oro 0.6 µm 20 - 60 mg/mL y luego se combinaron con CaCl₂ 50 µL (2.5 M) y espermidina 20 µL (0.1 M). La mezcla se mezcló en vórtex durante 5 segundos, se centrifugó en una microcentrífuga durante 5 segundos y se quitó el sobrenadante. Las partículas recubiertas con ADN luego se lavaron una vez con 150 µL de etanol al 100%, se mezclaron en vórtex y se centrifugaron en una microcentrífuga una vez más, luego se volvieron a suspender en 85 µL del etanol anhidro. Luego, cinco µL de las partículas de oro cubiertas con ADN se cargaron en cada disco macroportador.

Maduración de embriones:

Siete días luego del bombardeo, el medio líquido se intercambió con medio SB196 fresco complementado con higromicina 30-50 mg/L. El medio selectivo se renovó posteriormente una vez por semana o dos. Siete semanas luego del bombardeo, se observó tejido transformado, verde brillante, que crecía de agrupaciones embriogénicas necróticas o cloróticas, sin transformar. Se quitó tejido verde aislado y se inoculó en pocillos individuales en placas de cultivo de seis pocillos para generar nuevos cultivos de suspensión embriogénica transformados, propagados de forma clonal. Por lo tanto, cada línea nueva fue tratada como un evento de transformación independiente en un pocillo individual. Estas suspensiones luego se pueden mantener como suspensiones de embriones agrupados en una etapa de desarrollo inmaduro a través del subcultivo o se pueden regenerar en plantas enteras mediante maduración y germinación de embriones somáticos individuales.

Luego de dos semanas en pocillos de células individuales, las agrupaciones embriogénicas transformadas se quitaron del cultivo líquido y se colocaron en medio solidificado (SB166) que no contiene ni hormonas ni antibióticos durante una semana. Los embriones se cultivaron a 26 °C con luces fluorescentes e incandescentes mezcladas en un cronograma de 16 h día / 8 h noche. Luego de una semana, los cultivos se transfirieron a medio SB103 y se mantuvieron en las mismas condiciones de crecimiento durante 3 semanas adicionales.

Regeneración de plantas:

Los embriones somáticos se vuelven adecuados para germinación luego de cuatro semanas. Tal como se describe en el Ejemplo 4, los embriones somáticos son un buen modelo de embriones cigóticos y para cada experimento, un subconjunto de embriones somáticos en esta etapa de cada experimento se retiró y analizó en busca de cambios en el perfil de ácidos grasos tal como se describe en el Ejemplo 4.

Para regenerar plantas, los embriones somáticos restantes se quitaron del medio de maduración y se secaron en placas de Petri vacías durante uno a cinco días. Los embriones secos luego se plantaron en medio SB71-4 donde se dejaron germinar bajo las mismas condiciones de luz y temperatura tal como se describe anteriormente. Los embriones germinados se transfirieron a suelo estéril y se cultivaron hasta su maduración para la producción de semillas.

Las semillas T1 se analizaron en busca de alteraciones en la composición de ácidos grasos. Por cada evento, se analizaron aproximadamente 10-20 semillas T1. Se produjeron virutas de semillas de soja al cortar la semilla con una hoja de afeitar evitando el eje embrionario. Se colocaron virutas de semillas de aproximadamente 2 mg en un vial que contiene 50 µL de TMSH y 0.5 mL de hexano y luego de la incubación a temperatura ambiente durante 30 minutos, los ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) de la fase de hexanos se analizaron mediante GC tal como se describe en el Ejemplo 4. Las generaciones posteriores de semilla de invernadero o cultivada en el campo fueron analizadas de forma similar en busca de cambios en la composición de ácidos grasos.

El perfil de ácido graso para la semilla T1 analizada de la soja transformada con PHP32510, que contiene el amiARN 369b-fad2-1 b se muestra en la Tabla 7a.

El perfil de ácido graso para la semilla T1 analizada de la soja transformada con PHP32511, que contiene el amiARN 159-fad2-1b b se muestra en la Tabla 7b.

- 5 El perfil de ácido graso para la semilla T1 analizada de la soja transformada con PHP32843, que contiene los amiARN 369b-fad2-1 b y 159-fad2-2 se muestra en la Tabla 7c.

El perfil de ácido graso para la semilla T1 analizada de la soja transformada con PHP33705, que contiene los amiARN 396-fad2-1 b y 396b-sad3 se muestra en la Tabla 17d.

- 10 El perfil de ácido graso para la semilla T1 analizada de la soja transformada con PHP38557, que contiene el amiARN 159-fad3c se muestra en la Tabla 7e.

El perfil de ácido graso para la semilla T1 analizada de la soja transformada con PHP41103, que contiene el amiARN 159-fatBF se muestra en la Tabla 7f.

El perfil de ácido graso para la semilla T1 analizada de la soja transformada con PHP41784, que contiene los amiARN 159-fad2-1b, 159-fatBFy 159-fad3c se muestra en la Tabla 7g.

- 15 Tabla 7a. Perfil de ácido graso para la semilla T1 analizada de la soja transformada con PHP32510, que contiene el amiARN 369b-fad2-1 b cultivado en el invernadero.

amiARN	Construcción	Evento	n.º de semill.	T1 semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.2.3	1		7,9	3,2	77,5	3,4	7,9
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.2.3	2	8GR31-2	7,6	3,2	80,2	2,3	6,7
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.2.3	3		11,5	3,9	15,4	55,7	13,4
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.2.3	4		11,3	3,9	11,4	56,4	17,0
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.2.3	5		9,4	3,1	72,7	5,3	9,5
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.2.3	6		8,3	3,1	77,6	2,9	8,2
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.2.4	1		12,1	3,7	14,5	55,6	14,1
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.2.4	2		13,1	2,7	12,5	54,8	16,9
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.2.4	3		11,8	3,5	15,8	57,1	11,7
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.2.4	4		11,7	3,5	17,4	56,1	11,3
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.2.4	5		8,5	3,6	74,6	4,5	8,8
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.2.4	6		9,1	3,9	72,0	5,9	9,1
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.10	1		13,1	3,4	22,6	46,7	14,3
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.10	2		11,7	3,4	18,0	52,2	14,7

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	n.º de semill.	T1 semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.10	3		11,2	3,1	22,2	49,9	13,6
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.10	4		12,6	3,0	20,3	47,4	16,6
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.10	5		12,4	3,4	17,5	52,6	14,1
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.10	6		14,2	3,1	12,6	50,5	19,6
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.11	1	8GR31- 7	8,3	2,9	79,8	1,9	7,0
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.11	2		7,6	2,5	80,5	1,6	7,9
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.11	3		7,9	2,8	79,9	2,2	7,2
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.11	4		8,6	3,2	76,1	3,8	8,3
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.11	5		8,0	2,2	81,8	2,2	5,8
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.11	6		8,5	2,3	77,0	2,3	9,9
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.3	1		10,8	3,3	18,8	56,5	10,7
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.3	2		12,4	3,2	20,2	53,7	10,6
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.3	3		9,3	2,9	78,6	3,5	5,7
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.3	4		8,1	3,3	76,4	4,2	8,1
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.3	5		9,0	3,0	76,3	3,8	7,8
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.3	6	8GR31- 16	9,3	3,3	74,4	5,7	7,3
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.6	1	8GR31- 19	12,1	3,5	18,5	54,0	11,9
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.6	2		7,6	3,5	82,8	1,3	4,8
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.6	3		12,1	4,0	19,5	53,4	11,0
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.6	4		8,4	4,2	75,3	3,9	8,1
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.6	5		8,1	3,3	79,5	2,3	6,9
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.6	6		8,4	3,5	77,8	3,2	7,1
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.11	1		11,1	3,6	10,0	54,5	20,9

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	n.º de semill.	T1 semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.11	2		8,2	3,1	73,1	6,2	9,5
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.11	3		11,9	3,2	12,7	55,4	16,7
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.11	4		8,6	3,0	70,8	7,8	9,8
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.11	5		11,2	3,3	13,0	56,2	16,3
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.11	6		11,8	3,5	12,0	53,7	19,0
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.5	1		11,2	3,4	12,4	57,1	15,9
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.5	2		8,1	3,2	75,8	4,4	8,5
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.5	3	8GR31- 24	8,4	3,1	75,8	4,8	7,9
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.5	4		11,4	3,2	15,1	54,2	16,2
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.5	5		7,8	3,4	78,7	2,9	7,2
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.5	6		8,2	3,4	72,2	7,0	9,2
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.8	1		8,0	3,2	78,4	3,2	7,2
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.8	2		10,9	3,6	11,8	58,0	15,7
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.8	3		7,7	3,4	77,2	3,6	8,1
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.8	4		7,9	3,1	76,1	4,2	8,7
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.8	5		8,6	2,9	73,7	5,9	9,0
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.8	6		8,3	2,9	77,6	3,5	7,7
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.9	1		12,6	2,5	17,2	51,3	16,4
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.9	2		11,9	3,1	12,7	54,3	17,9
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.9	3		11,5	3,6	13,0	56,3	15,6
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.9	4		12,2	2,9	13,5	52,5	18,9
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.9	5		11,5	2,7	9,9	54,0	21,9
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.9	6		9,7	2,6	17,0	58,8	12,0

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	n.º de semill.	T1 semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.1	1		13,0	3,6	14,1	57,1	12,2
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.1	2		7,9	3,9	79,5	2,7	6,0
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.1	3		8,5	4,1	76,1	4,3	7,1
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.1	4		8,5	3,8	78,1	2,9	6,7
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.1	5		12,0	4,3	14,3	56,1	13,3
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.1	6		9,0	3,8	75,9	4,0	7,3

Tabla 7b. Perfil de ácido graso para la semilla T1 analizada de la soja transformada con PHP32511, que contiene el amiARN 159-fad2-1 b cultivado en el invernadero.

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.5.8	1		9,8	3,3	70,1	7,0	9,9
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.5.8	2		9,1	3,3	74,5	4,3	8,8
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.5.8	3	8GR31-38	9,9	3,2	72,9	4,8	9,2
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.5.8	4		12,3	3,5	17,8	54,0	12,3
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.5.8	5		13,1	3,7	13,5	56,4	13,4
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.5.8	6		8,6	3,5	74,4	4,7	8,8
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.6.8	1		14,1	3,5	11,1	56,3	15,0
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.6.8	2		10,6	3,3	69,6	6,7	9,9
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.6.8	3		12,8	3,2	12,7	58,5	12,8
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.6.8	4		12,5	3,5	14,9	58,1	11,1
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.6.8	5		12,0	3,6	12,9	59,0	12,4
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.6.8	6		13,2	3,1	10,9	59,0	13,8
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.6	1		10,9	3,6	69,9	5,6	10,0
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.6	2	8GR31-42	9,3	3,4	73,9	4,8	8,6

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.6	3		10,9	3,2	68,7	6,2	11,0
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.6	4	8GR31-44	9,5	3,4	67,1	8,9	11,0
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.6	5		11,0	2,8	72,7	4,5	9,0
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.6	6		8,7	3,2	74,5	5,0	8,7
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.8.3	1		8,8	3,9	74,1	4,4	8,8
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.8.3	2		12,0	3,9	13,5	58,6	12,1
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.8.3	3		8,2	4,3	75,2	4,5	7,8
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.8.3	4		9,6	3,4	65,4	10,6	11,0
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.8.3	5		8,3	3,4	73,1	6,2	9,0
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.8.3	6		8,3	3,0	73,8	6,3	8,5
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.8.8	1		11,6	3,3	19,6	52,7	12,7
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.8.8	2		9,1	3,4	74,5	4,7	8,3
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.8.8	3		8,7	3,3	80,2	1,4	6,5
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.8.8	4		9,2	2,9	42,2	39,9	5,8
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.8.8	5		8,8	3,5	77,8	3,2	6,8
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.8.8	6		8,8	3,2	77,5	2,6	7,8
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.1.4	1		8,2	3,5	76,4	4,1	7,8
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.1.4	2		8,0	3,2	77,1	3,7	8,0
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.1.4	3	8GR31-58	8,2	3,4	78,1	2,7	7,6
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.1.4	4	8GR31-59	8,2	3,2	78,6	2,6	7,3
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.1.4	5		8,1	3,6	76,2	4,6	7,6
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.1.4	6	8GR31-61	8,3	4,2	77,9	2,8	6,7
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.5.2	1		10,1	3,9	76,2	2,6	7,3
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.5.2	2		7,8	3,4	82,7	1,4	4,8

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.5.2	3		8,4	3,3	81,5	1,3	5,6
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.5.2	4		7,6	3,6	82,3	1,4	5,1
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.5.2	5		12,8	3,7	13,0	56,4	14,2
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.5.2	6		8,4	3,2	82,0	1,5	5,0
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.6.5	1		13,2	3,3	19,5	54,8	9,2
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.6.5	2		12,2	3,2	18,6	54,6	11,3
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.6.5	3	8GR31-67	8,0	3,0	79,5	2,6	6,8
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.6.5	4		8,4	2,9	80,9	1,9	5,7
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.6.5	5		8,8	4,1	75,5	4,2	7,5
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.6.5	6		12,8	3,5	20,6	53,1	10,0
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.1	1		11,3	3,1	63,9	10,0	11,7
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.1	2		7,3	3,5	82,8	1,4	5,0
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.1	3		12,5	2,9	32,6	44,8	7,2
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.1	4		7,6	3,6	81,0	2,2	5,6
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.1	5		11,6	3,4	15,6	58,7	10,7
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.1	6		11,3	3,4	18,9	56,4	10,1
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	1	8GR31-73	8,6	3,2	80,4	2,1	5,7
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	2	8GR31-74	8,3	3,1	81,9	1,4	5,3
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	3	8GR31-75	8,7	3,2	81,5	1,6	4,9
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	4	8GR31-76	8,1	3,2	80,2	2,1	6,5
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	5		9,0	3,3	77,5	2,7	7,5
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	6	8GR31-78	8,0	3,3	81,3	1,9	5,6
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.8.2	1		13,3	3,2	16,4	54,4	12,7
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.8.2	2		12,9	3,0	17,5	54,9	11,8

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.8.2	3		12,5	3,1	17,0	56,1	11,4
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.8.2	4		12,7	3,0	17,6	55,1	11,7
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.8.2	5		12,5	3,0	19,0	54,9	10,6
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.8.2	6		13,0	3,1	17,2	54,1	12,6

Tabla 7c Perfil de ácido graso para la semilla T1 analizada de la soja transformada con PHP32843, que contiene los amiARN 369b-fad2-1 b y 159-fad2-2 cultivados en el invernadero.

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.1.11	1		8,2	3,0	85,8	0,4	2,7
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.1.11	2		7,9	3,3	85,4	0,5	2,9
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.1.11	3		8,2	3,2	85,8	0,4	2,6
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.1.11	4		8,1	3,3	85,6	0,4	2,6
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.1.11	5		8,3	3,1	85,2	0,4	2,9
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.1.11	6		13,1	3,5	11,4	55,1	16,8
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.1.2	1		11,5	3,3	20,0	55,0	10,2
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.1.2	2		7,2	3,2	87,3	0,3	2,0
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.1.2	3		7,6	2,9	86,7	0,4	2,4
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.1.2	4		7,6	3,3	85,9	0,5	2,7
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.1.2	5		7,9	3,0	86,7	0,3	2,1
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.1.2	6		8,1	3,0	84,0	1,0	4,0
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.1.4	1		7,8	3,3	83,4	1,3	4,2
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.1.4	2		7,5	3,2	85,7	0,7	2,9
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.1.4	3		7,7	3,1	83,7	1,2	4,3
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.1.4	4		8,4	3,6	82,1	1,3	4,7
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.1.4	5		7,2	3,2	86,0	0,7	2,9
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.1.4	6		7,4	3,4	85,7	0,6	2,9
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.1.5	1		8,3	2,9	80,5	2,9	5,4
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.1.7	1		12,9	3,2	16,0	53,5	14,4
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.1.7	2		7,5	3,1	85,2	1,0	3,3
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.1.7	3		7,8	2,8	84,0	1,3	4,1

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.1.7	4		7,1	3,3	87,3	0,4	1,9
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.1.7	5		7,4	3,2	85,2	0,9	3,3
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.1.7	6		11,8	3,4	18,0	54,2	12,6
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.2.2	1		8,1	2,9	83,8	1,2	4,0
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.2.2	2	8GR31-140	7,8	2,5	86,6	0,6	2,5
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.2.2	3		13,5	2,8	14,3	56,7	12,7
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.2.2	4		8,0	2,8	85,0	1,1	3,1
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.2.2	5		8,3	2,4	84,6	1,3	3,4
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.2.2	6		7,7	2,4	87,2	0,7	2,0
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.2.3	1		13,2	3,3	16,6	56,3	10,7
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.2.3	2		7,4	2,7	85,8	1,1	3,0
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.2.3	3	8GR31-145	7,3	2,6	87,5	0,7	2,0
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.2.3	4		13,2	3,0	13,0	60,9	10,0
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.2.3	5		7,5	2,5	86,6	0,9	2,5
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.2.3	6		12,7	3,0	20,3	55,1	8,9
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.2.4	1		7,8	3,0	86,1	0,5	2,6
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.2.4	2		7,6	3,0	86,7	0,4	2,3
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.2.4	3		7,4	3,3	86,1	0,6	2,6
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.2.4	4		7,5	3,4	86,3	0,6	2,2
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.2.4	5		12,6	3,9	17,4	54,0	12,1
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.2.4	6		7,6	3,1	86,4	0,7	2,2
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.2.9	1		7,5	3,1	86,7	0,6	2,0
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.2.9	2		13,0	3,5	17,9	53,3	12,3
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.2.9	3		7,5	3,1	85,8	0,8	2,8
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.2.9	4		13,1	3,4	17,6	53,9	12,0
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.2.9	5		7,5	3,2	85,4	0,9	2,9

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.2.9	6		7,5	3,2	86,6	0,6	2,1
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.3.3	1		13,9	3,0	10,9	58,0	14,2
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.3.3	2		13,3	2,9	8,2	60,9	14,7
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.3.8	1	8GR31-156	7,2	3,0	87,0	0,4	2,3
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.3.8	2	8GR31-157	7,9	2,9	84,8	0,8	3,6
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.3.8	3		7,6	2,7	86,0	0,7	2,9
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.3.8	4		12,1	3,4	12,6	57,9	14,0
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.3.8	5		11,6	3,1	17,4	55,1	12,7
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP32843	AFS 5396.3.8	6		11,5	3,3	19,3	54,2	11,8

ES 2 635 115 T3

Tabla 7d. Perfil de ácido graso para la semilla T1 analizada de la soja transformada con PHP33705, que contiene los amiARN 396-fad2-1 b y 396b-sad3 cultivados en el invernadero.

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.1.1	1		12,8	2,5	22,0	54,1	8,7
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.1.1	2		8,8	10,3	59,8	10,4	10,6
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.1.1	3		12,8	2,7	22,4	53,0	9,1
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.1.1	4		7,8	12,7	66,1	5,3	8,1
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.1.1	5		7,9	14,9	65,9	3,9	7,3
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.1.1	6		13,4	3,4	20,6	54,7	7,9
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.1.2	1		12,6	2,8	17,7	56,5	10,4
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.1.2	2		8,5	0,0	73,2	8,0	10,3
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.1.2	3		8,1	13,1	65,7	5,4	7,8
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.1.2	4		13,3	3,5	19,2	52,9	11,2
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.1.2	5		7,7	5,5	70,6	6,2	10,0
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.1.2	6		12,2	3,1	23,4	52,3	8,9
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.2.2	1		11,3	3,3	21,2	53,5	10,7
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.2.2	2		11,3	3,3	17,0	57,8	10,6
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.2.2	3		10,6	3,6	15,2	59,2	11,4
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.2.2	4		12,1	3,5	16,2	58,1	10,1
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.2.2	5		12,6	4,0	12,9	58,2	12,3
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.2.2	6		11,9	3,2	18,8	56,2	9,9
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.2.5	1		12,4	3,2	15,5	57,1	11,8
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.2.5	2		11,9	3,4	15,8	56,9	12,0
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.2.5	3		11,9	3,0	17,8	56,7	10,7
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.2.5	4		12,9	3,2	11,5	57,2	15,1

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.2.5	5		7,6	9,4	69,8	5,1	8,1
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.2.5	6		10,9	2,2	28,6	49,9	8,3
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.2.7	1		7,4	12,6	70,4	2,9	6,7
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.2.7	2		7,9	7,6	71,1	3,8	9,5
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.2.7	3		6,7	12,1	72,9	2,5	5,8
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.2.7	4		7,8	11,6	65,3	5,6	9,7
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.2.7	5		7,2	14,6	68,2	1,8	8,2
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.2.7	6		7,8	8,1	72,2	3,2	8,6
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1	1		11,5	2,8	24,0	50,3	11,5
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1	2		6,6	13,2	64,4	4,8	11,0
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1	3		6,3	16,4	65,0	3,4	8,9
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1	4		6,5	14,1	64,2	5,1	10,0
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1	5		6,1	17,9	64,3	3,5	8,1
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1	6		10,8	3,7	58,9	11,5	15,1
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.3	1		6,4	8,6	75,2	3,1	6,7
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.3	2		7,1	7,7	73,0	3,8	8,3
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.3	3		7,3	8,2	72,5	4,2	7,8
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.3	4		7,8	7,4	68,7	5,8	10,3
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.3	5		11,5	3,2	18,1	56,0	11,3
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.3	6		12,4	3,0	16,9	56,2	11,6
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.7	1		7,4	7,6	71,9	4,4	8,7
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.7	2		11,2	3,2	17,6	58,0	10,0
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.7	3		7,3	9,1	71,3	3,8	8,4
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.7	4		6,8	8,1	72,1	4,2	8,8

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.7	5		6,6	6,6	74,7	4,2	7,8
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.7	6		6,7	8,0	73,6	4,0	7,6
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.2	1		11,5	2,4	25,8	49,4	10,9
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.2	2		11,3	3,4	35,6	41,2	8,5
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.2	3		6,9	9,5	71,8	3,5	8,3
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.2	4		11,1	2,8	28,7	48,6	8,7
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.2	5		6,3	10,9	68,7	4,8	9,3
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.2	6		12,1	3,2	16,0	56,2	12,5
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.3	1		6,5	9,3	74,3	3,2	6,7
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.3	2		7,1	12,3	70,6	2,7	7,3
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.3	3		10,6	2,7	29,9	48,3	8,5
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.3	4		11,6	2,2	22,7	53,6	9,9
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.3	5		7,1	13,0	71,7	1,4	6,9
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.3	6		6,8	13,1	70,4	2,9	6,8
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.7	1		11,6	3,2	19,3	54,2	11,7
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.7	2		11,4	3,2	20,5	54,0	10,9
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.7	3		11,8	3,1	19,3	53,1	12,7
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.7	4		12,3	3,1	16,4	55,8	12,4
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.7	5		12,6	3,1	10,3	54,9	19,0
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.7	6		12,2	3,3	19,7	54,9	9,9
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.8	1		6,7	14,4	68,7	3,0	7,3
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.8	2		13,2	2,6	14,6	52,6	17,0
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.8	3		6,3	14,9	67,9	3,6	7,3
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.8	4		7,9	8,6	68,9	5,3	9,3

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.8	5		6,4	12,1	69,3	4,2	8,0
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.8	6		11,7	2,7	21,8	54,7	9,1
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.2	1		8,0	8,6	63,5	9,1	10,8
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.2	2		6,5	13,6	62,6	7,7	9,7
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.2	3		7,4	13,9	58,7	7,1	13,0
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.2	4		12,8	3,5	21,3	49,5	13,0
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.2	5		13,1	3,4	16,1	52,1	15,4
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.2	6		7,9	8,1	65,4	7,2	11,3
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.2	7		6,9	16,8	61,2	5,1	10,0
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.2	8		7,5	11,2	60,5	8,9	12,0
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.2	9		7,5	9,4	65,3	6,9	10,8
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.2	10		12,4	3,4	18,8	51,1	14,2
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.2	11		7,3	7,8	69,4	5,3	10,2
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.2	12		6,6	13,8	62,0	7,8	9,8
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.2	13	10GR13 -6	6,2	14,8	63,5	5,4	10,1
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.2	14	10GR13 -7	11,7	3,1	19,7	52,6	13,0
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.2	15	10GR13 -8	13,5	3,1	16,7	51,0	15,6
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.2	16		7,1	12,9	63,2	6,6	10,2
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.2	17		7,4	9,1	67,3	5,5	10,7
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.2	18		12,2	3,4	18,6	52,4	13,4
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.2	19		7,6	7,9	64,7	7,4	12,4
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.2	20		13,2	3,2	19,1	49,4	15,2
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.2	21		7,1	12,7	60,1	8,9	11,2
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.2	22		8,3	6,8	63,6	9,6	11,7

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.2	23		6,5	13,1	62,5	7,0	10,8
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.2	24		7,7	9,7	60,0	11,3	11,3
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.4	1		7,5	7,2	69,8	7,1	8,4
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.4	2		6,8	10,7	69,1	4,6	8,8
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.4	3	10GR13 - 14	6,8	13,3	66,2	5,1	8,6
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.4	4	10GR13 - 15	6,0	16,6	66,0	3,9	7,5
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.4	5		6,6	9,7	72,7	3,0	7,9
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.4	6		8,8	6,2	64,5	8,6	12,0
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.4	7	10GR13 - 16	6,2	11,7	71,1	3,5	7,6
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.4	8	10GR13 - 17	11,2	3,2	15,0	58,3	12,3
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.4	9		8,7	6,7	63,8	10,2	10,7
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.4	10		7,1	9,0	72,6	3,4	7,9
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.4	11		6,2	13,5	67,5	4,1	8,7
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.4	12		7,2	9,0	70,8	4,0	8,9
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.4	13		7,0	9,7	69,0	5,2	9,1
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.4	14	10GR13 - 19	7,7	10,6	65,0	7,7	9,1
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.4	15	10GR13 - 20	7,3	10,8	67,8	5,8	8,3
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.4	16		6,8	12,6	65,5	5,3	9,8
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.4	17		6,5	9,3	69,3	5,9	9,0
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.4	18		6,1	11,9	70,3	3,1	8,6
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.4	19		7,3	7,0	71,9	4,6	9,2
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.4	20		7,4	7,6	71,1	4,3	9,6
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.4	21	10GR13 - 23	6,1	13,7	69,6	3,2	7,5
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.4	22		10,9	3,4	19,0	56,4	10,3

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.4	23		7,2	8,4	69,6	5,2	9,5
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.4	24		6,9	9,4	69,3	5,2	9,3
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1 1	1		11,4	4,1	15,8	57,5	11,1
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1 1	2		11,8	3,3	30,2	45,1	9,6
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1 1	3		7,3	15,9	65,4	3,4	8,1
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1 1	4		6,6	14,1	68,8	2,6	7,9
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1 1	5		13,1	3,3	14,4	55,0	14,2
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1 1	6		10,8	3,6	20,7	55,7	9,3
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1 1	7		13,7	4,7	29,4	46,2	6,0
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1 1	8		5,5	23,6	63,9	1,6	5,4
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1 1	9		5,2	17,6	68,8	2,4	6,0
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1 1	10		5,6	15,0	70,4	3,4	5,6
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1 1	11		12,2	3,5	19,7	53,8	10,8
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1 1	12		5,6	10,9	72,9	4,3	6,2
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1 1	13		8,2	12,1	58,2	8,6	12,8
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1 1	14		11,7	3,6	13,7	57,6	13,4
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1 1	15		6,6	24,9	59,4	2,6	6,5
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1 1	16		8,2	8,8	61,8	10,0	11,3
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1 1	17		11,2	3,6	32,4	44,6	8,1
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1 1	18		6,7	13,2	72,0	1,8	6,3
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1 1	19		6,4	15,9	67,4	2,8	7,6
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1 1	20		11,6	3,5	17,7	54,3	12,9
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1 1	21		6,4	23,5	61,2	2,1	6,8
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1 1	22		7,4	12,7	66,5	2,9	10,5

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1 1	23		7,7	14,4	68,1	2,1	7,7
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.3.1 1	24		8,1	15,2	65,1	2,9	8,7
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.1	1		6,2	14,6	70,5	2,0	6,8
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.1	2		5,7	14,5	71,2	3,0	5,6
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.1	3		8,3	5,5	69,5	6,2	10,6
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.1	4		6,8	14,3	65,6	4,4	8,9
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.1	5		5,9	18,0	66,3	2,1	7,6
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.1	6		6,4	16,0	67,8	2,0	7,8
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.1	7		7,4	17,3	64,7	2,2	8,4
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.1	8	10GR13 - 48	11,8	3,1	19,3	54,7	11,1
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.1	9		10,1	3,0	29,0	49,0	8,9
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.1	10		5,0	20,2	66,7	2,4	5,7
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.1	11		5,6	14,3	71,5	3,7	5,1
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.1	12		10,7	3,8	26,2	53,0	6,3
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.1	13		11,5	3,5	17,2	56,1	11,8
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.1	14		5,7	21,5	63,8	1,7	7,3
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.1	15		11,6	3,5	23,5	53,2	8,2
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.1	16	10GR13 - 53	10,8	3,0	18,6	57,5	10,1
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.1	17	10GR13 - 54	5,5	16,4	69,8	1,3	7,0
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.1	18		10,3	3,3	31,5	47,8	7,1
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.1	19		4,4	22,2	65,4	2,5	5,5
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.1	20	10GR13 - 56	4,8	20,5	67,4	1,4	5,9
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.1	21		6,5	15,6	65,5	4,0	8,5
396-fad2- 1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.1	22		6,3	14,8	66,0	3,3	9,6

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.1	23		6,5	13,4	66,1	4,4	9,7
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP33705	AFS 5489.4.1	24		5,7	15,4	70,8	1,4	6,7

Tabla 7e Perfil de ácido graso para la semilla T1 analizada de la soja transformada con PHP38557, que contiene el amiARN 159-fad3c cultivado en el invernadero.

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.1.4	1	10GR13-63	13,2	3,3	12,5	67,8	3,2
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.1.4	2		13,0	3,2	16,8	63,1	4,0
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.1.4	3	10GR13-65	13,3	3,4	14,1	65,3	3,9
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.1.4	4		10,1	2,5	30,5	45,4	11,5
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.1.4	5	10GR13-66	12,5	3,4	13,5	53,4	17,2
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.1.4	6		12,3	3,8	12,5	67,1	4,3
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.1.4	7		12,8	3,4	15,3	65,1	3,4
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.1.4	8		12,4	3,3	14,4	65,6	4,3
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.1.4	9	10GR13-70	10,7	3,2	18,9	55,0	12,2
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.1.4	10		13,1	3,6	15,1	64,7	3,5
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.1.4	11		11,8	2,8	20,9	61,6	2,8
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.1.4	12		12,3	3,5	15,8	64,9	3,5
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.1.4	13	10GR13-73	12,0	3,7	13,8	68,3	2,2
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.1.4	14		12,4	3,6	15,8	65,0	3,2
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.1.4	15		12,0	3,2	15,2	65,9	3,7
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.1.4	16		11,4	3,1	19,6	63,0	2,9
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.1.4	17		11,2	3,2	16,2	55,0	14,4
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.1.4	18		12,0	3,3	14,6	66,5	3,5
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.1.4	19		11,4	3,1	19,1	63,3	3,0
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.1	1		12,7	3,1	15,0	65,8	3,5
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.1	2		13,0	3,2	19,1	61,3	3,4
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.1	3	10GR13-81	11,3	2,9	15,4	55,3	15,2
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.1	4	10GR13-82	12,1	2,7	16,9	52,5	15,8
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.1	5	10GR13-83	12,9	3,5	15,9	65,3	2,4
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.1	6		12,2	3,1	16,0	53,5	15,2
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.1	7		12,2	3,4	16,4	64,8	3,1

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.1	8		12,5	2,9	17,6	51,9	15,1
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.1	9		12,3	3,2	15,2	65,6	3,7
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.1	10		13,3	3,6	13,7	65,4	4,1
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.1	11		12,2	3,6	14,2	66,3	3,6
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.1	12		11,4	3,2	15,1	56,4	13,9
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.1	13	10GR13-90	12,8	3,3	13,0	67,8	3,2
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.1	14	10GR13-91	12,2	4,2	13,6	67,6	2,4
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.1	15		11,9	3,4	14,6	66,5	3,5
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.1	16	10GR13-93	12,1	3,8	14,5	66,2	3,4
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.1	17		11,8	3,4	14,1	56,6	14,1
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.1	18		11,1	3,6	12,5	57,8	15,0
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.1	19	10GR13-94	12,3	3,2	14,4	67,2	2,9
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.3	1	10GR13-95	12,9	3,0	14,4	64,7	5,0
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.3	2	10GR13-96	12,7	3,4	14,1	64,7	5,1
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.3	3	10GR13-97	12,7	3,5	15,5	64,9	3,4
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.3	4	10GR13-98	13,5	3,6	11,8	66,2	4,8
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.3	5		12,6	3,1	15,7	63,7	4,9
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.3	6		12,3	3,2	15,8	63,9	4,8
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.3	7		12,6	3,2	14,5	64,8	4,9
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.3	8	10GR13-101	12,6	2,8	18,0	62,0	4,5
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.3	9	10GR13-102	13,1	3,3	15,5	62,5	5,6
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.3	10		13,0	3,4	13,7	65,6	4,4
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.3	11	10GR13-103	14,0	3,5	11,9	63,5	7,1
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.3	12	10GR13-104	12,0	3,3	15,0	64,7	5,0
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.3	13		12,5	3,7	13,7	65,2	4,9
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.3	14		11,7	3,4	13,9	66,5	4,4
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.3	15	10GR13-106	11,7	3,6	16,1	66,0	2,7
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.3	16	10GR13-107	12,2	3,5	14,2	54,2	15,9
159-fad3c	PHP38557	AFS 6272.2.3	17		12,3	3,1	15,7	64,5	4,4

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
159-fat3c	PHP38557	AFS 6272.2.3	18	10GR13-109	12,5	3,5	13,6	55,3	14,9
159-fat3c	PHP38557	AFS 6272.2.3	19		12,3	3,1	15,0	64,5	5,0

Tabla 7f. Perfil de ácido graso para la semilla T2 analizada de la soja transformada con PHP41103, que contiene el amiARN 159-fatBF cultivado en el invernadero.

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.4	1		2,5	2,2	22,0	64,3	9,1
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.4	2	10GR13-222	2,5	2,5	22,4	62,9	9,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.4	3		2,7	2,5	21,0	63,2	10,5
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.4	4		2,9	2,5	24,7	60,1	9,8
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.4	5		11,8	3,0	19,7	55,9	9,5
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.4	6	10GR13-226	11,1	3,1	17,4	58,3	10,1
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.4	7		2,3	1,9	26,8	57,8	11,2
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.4	8		2,2	1,8	22,4	61,5	12,1
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.4	9	10GR13-229	2,4	1,9	23,2	61,1	11,5
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.4	10		2,9	2,6	20,0	64,2	10,4
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.4	11		2,5	2,0	20,9	62,5	12,0
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.4	12		2,5	2,1	23,5	61,1	10,8
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.4	13		2,8	2,3	21,3	63,1	10,5
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.4	14		2,8	2,2	22,2	63,1	9,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.4	15		2,8	2,3	19,8	62,7	12,4
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.4	16		2,3	1,8	33,0	52,9	9,9
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.4	17	10GR13-237	11,1	2,7	20,5	54,1	11,5
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.4	18		2,3	1,8	24,5	57,3	14,2
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.4	19		11,2	3,0	17,6	57,3	10,9
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.4	20		2,4	1,9	23,8	59,7	12,2
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.4	21		2,1	1,7	26,0	58,3	12,0
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.6	1	10GR13-242	2,1	1,8	39,8	47,1	9,1
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.6	2	10GR13-243	2,2	1,8	28,5	56,8	10,8
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.6	3	10GR13-244	2,2	2,0	27,9	57,8	10,1
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.6	4		2,4	1,8	35,0	50,4	10,4
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.6	5		10,7	2,8	31,9	45,0	9,6

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.6	6	10GR13- 247	1,9	1,6	27,5	54,4	14,6
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.6	7		11,8	2,6	18,9	53,9	12,8
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.6	8	10GR13- 249	2,2	1,6	27,3	56,6	12,3
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.6	9		2,5	1,8	30,1	54,6	11,0
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.6	10		2,4	1,7	26,5	55,0	14,3
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.6	11	10GR13- 252	2,4	1,8	27,0	58,8	10,1
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.6	12	10GR13- 253	2,3	1,6	25,6	57,2	13,2
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.6	13		2,3	1,6	37,6	47,8	10,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.6	14		2,3	1,5	25,9	57,3	13,0
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.6	15	10GR13- 256	2,3	2,1	18,4	65,4	11,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.6	16		2,2	2,0	35,0	51,1	9,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.6	17	10GR13- 258	2,3	1,7	26,0	58,6	11,3
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.6	18		2,6	2,1	28,6	56,7	10,0
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.6	19	10GR13- 260	2,4	1,9	32,1	52,7	10,8
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.6	20	10GR13- 261	11,2	2,4	20,0	54,4	12,1
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.1.6	21	10GR13- 262	11,9	2,6	22,8	51,4	11,4
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.1	1		2,4	2,3	20,6	64,0	10,6
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.1	2		2,5	2,6	19,3	64,8	10,8
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.1	3		2,9	2,8	19,4	66,4	8,4
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.1	4		3,1	2,4	19,4	65,0	10,2
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.1	5		10,9	3,0	19,0	56,5	10,6
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.1	6		2,5	2,4	18,5	62,8	13,9
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.1	7	10GR13- 269	11,1	2,7	16,6	57,0	12,6
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.1	8	10GR13- 270	2,7	2,6	18,1	66,0	10,6
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.1	9		2,5	2,0	18,5	61,7	15,3
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.1	10		2,7	2,4	18,0	64,0	13,0
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.1	11		10,7	2,7	16,1	57,7	12,8
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.1	12	10GR13- 274	11,5	2,7	16,6	57,5	11,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.1	13		11,2	2,7	13,3	56,8	16,0
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.1	14		12,1	2,8	14,8	57,4	12,9
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.1	15	10GR13- 277	12,0	2,5	14,6	56,1	14,7

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.1	16	10GR13- 278	2,3	2,2	18,2	64,8	12,5
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.1	17		2,7	2,2	14,9	66,4	13,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.1	18		11,6	2,7	16,0	56,0	13,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.1	19		11,5	3,2	14,6	54,5	16,1
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.1	20		2,7	2,3	17,3	64,9	12,8
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.1	21		11,2	2,8	15,4	58,2	12,3
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.2	1		2,7	2,1	21,9	63,0	10,4
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.2	2		2,8	2,0	25,3	60,3	9,6
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.2	3		3,2	2,5	24,6	60,2	9,4
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.2	4		10,8	3,1	22,5	53,8	9,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.2	5		11,6	3,0	19,4	56,0	9,9
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.2	6		2,4	2,0	32,9	52,2	10,6
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.2	7		11,9	2,8	19,1	54,8	11,4
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.2	8		2,7	2,1	27,9	57,8	9,5
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.2	9		2,6	2,1	23,8	60,2	11,3
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.2	10		2,7	2,1	18,4	64,7	12,1
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.2	11		2,9	2,1	24,6	59,9	10,6
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.2	12		2,5	2,4	24,0	58,6	12,6
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.2	13		11,1	2,5	21,4	54,5	10,5
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.2	14		2,8	2,2	21,0	61,9	12,1
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.2	15		2,4	1,8	20,6	61,6	13,5
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.2	16		2,2	1,8	34,9	49,2	11,8
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.2	17		2,3	1,8	25,8	58,7	11,4
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.2	18		2,9	2,2	26,4	58,6	9,8
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.2	19		11,7	3,0	16,7	53,1	15,5
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.2	20		2,4	2,2	14,8	67,2	13,4
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.3.2	21		2,5	2,0	23,7	60,2	11,6
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.4.2	1		2,4	2,6	16,8	67,5	10,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.4.2	2		2,5	2,1	26,6	59,0	9,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.4.2	3		3,1	3,1	17,1	65,6	11,1
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.4.2	4		3,3	2,3	24,5	60,8	9,1
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.4.2	5		11,4	3,0	20,4	54,2	11,0
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.4.2	6		10,5	2,3	20,3	54,7	12,2
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.4.2	7		3,0	2,2	19,0	63,0	12,8
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.4.2	8		11,5	3,3	16,6	55,7	12,9
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.4.2	9		11,4	3,0	17,6	55,8	12,1
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.4.2	10		11,1	3,2	19,4	54,8	11,4
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.4.2	11		11,1	2,9	15,8	58,2	12,1

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.4.2	12		2,7	2,0	25,4	59,2	10,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.4.2	13		2,3	1,9	25,8	59,0	11,1
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.4.2	14		3,1	2,2	21,0	62,0	11,8
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.4.2	15		2,6	2,1	23,4	60,2	11,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.4.2	16		2,8	2,7	17,1	63,6	13,8
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.4.2	17		2,6	2,8	19,9	63,0	11,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.4.2	18		11,1	3,0	17,3	57,3	11,4
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.4.2	19		10,9	2,7	19,4	55,4	11,6
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.4.2	20		3,0	2,3	19,0	63,3	12,4
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.4.2	21		2,5	2,6	18,9	63,9	12,1
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.1	1		2,3	2,1	19,7	65,3	10,6
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.1	2		2,6	2,1	26,8	60,8	7,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.1	3	10GR13- 286	11,4	3,5	17,0	57,4	10,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.1	4		12,4	3,2	14,5	58,9	11,0
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.1	5	10GR13- 288	12,5	3,3	13,0	59,0	12,3
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.1	6	10GR13- 289	2,3	2,4	18,0	65,7	11,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.1	7		2,8	2,3	16,4	66,7	11,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.1	8		11,2	2,9	16,2	56,9	12,8
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.1	9		2,5	2,2	18,7	66,1	10,4
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.1	10		2,4	2,4	15,8	65,2	14,3
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.1	11		2,6	2,2	15,6	67,7	12,0
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.1	12		2,4	1,8	22,7	60,9	12,1
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.1	13		11,1	3,3	17,1	55,7	12,8
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.1	14		2,3	2,4	16,5	65,7	13,1
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.1	15		2,4	2,1	16,2	66,3	12,9
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.1	16		2,5	2,5	17,0	64,3	13,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.1	17		10,8	3,1	14,2	58,2	13,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.1	18		2,6	2,1	20,9	63,1	11,3
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.1	19		2,3	1,8	20,1	62,8	13,0
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.1	20		2,3	2,3	14,1	68,2	13,0
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.1	21	10GR13- 304	2,4	2,5	15,5	67,8	11,8
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.3	1		2,8	2,8	16,5	66,0	11,9
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.3	2		4,0	2,9	19,1	64,1	9,9
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.3	3	10GR13- 307	4,1	2,6	17,7	65,3	10,2
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.3	4		13,3	3,6	12,3	57,5	13,3

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.3	5	10GR13-309	13,3	3,2	15,3	57,2	11,0
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.3	6	10GR13-310	3,4	2,6	17,9	65,3	10,9
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.3	7		3,7	2,7	15,3	63,9	14,4
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.3	8		3,3	2,7	15,5	61,3	17,2
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.3	9	10GR13-313	2,9	2,4	19,4	63,2	12,1
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.3	10		3,9	2,9	15,0	65,4	12,8
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.3	11		3,8	2,6	15,5	64,3	13,8
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.3	12		2,9	2,3	14,6	65,2	15,0
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.3	13		3,4	2,1	17,6	64,6	12,3
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.3	14	10GR13-318	11,2	3,0	14,4	58,3	13,2
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.3	15		3,0	2,1	16,0	64,3	14,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.3	16		11,4	3,2	13,2	57,9	14,4
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.3	17	10GR13-321	2,8	2,5	15,7	63,8	15,1
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.3	18		3,6	2,3	19,5	61,1	13,5
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.3	19		2,8	2,5	13,4	66,3	15,0
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.3	20		11,4	3,2	14,1	55,7	15,5
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.6.3	21		3,6	2,6	18,3	63,5	12,0
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.10.4	1		2,2	2,1	32,6	53,0	10,2
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.10.4	2		2,3	1,9	32,8	53,1	9,8
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.10.4	3		2,4	1,9	39,4	47,2	9,1
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.10.4	4		2,5	2,3	17,2	66,1	11,9
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.10.4	5		11,4	2,7	26,5	51,2	8,2
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.10.4	6		11,3	2,6	20,4	52,3	13,4
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.10.4	7		11,3	2,2	23,2	52,2	11,3
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.10.4	8		11,7	3,2	15,9	54,9	14,3
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.10.4	9		2,3	2,0	19,1	62,8	13,8
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.10.4	10		2,3	2,3	18,0	64,5	12,9
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.10.4	11		11,0	2,5	24,2	50,9	11,5

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.10.4	12		2,1	1,4	37,9	48,2	10,4
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.10.4	13		10,9	3,1	13,5	58,8	13,8
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.10.4	14		11,9	3,0	12,3	54,3	18,5
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.10.4	15		2,0	2,2	14,8	64,3	16,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.10.4	16		11,5	3,3	12,4	56,2	16,5
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.10.4	17		2,5	2,1	17,4	64,7	13,2
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.10.4	18		2,2	1,7	19,5	64,0	12,5
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.10.4	19		11,8	2,5	13,8	55,4	16,5
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.10.4	20		11,2	3,0	14,1	57,8	14,0
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.10.4	21		2,5	1,5	27,0	56,0	13,0
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.2	1		2,3	1,9	28,8	56,1	10,9
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.2	2		2,3	2,1	37,8	47,8	9,9
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.2	3	10GR13- 328	11,3	2,8	21,6	52,9	11,5
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.2	4	10GR13- 329	11,8	2,7	21,9	53,2	10,4
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.2	5	10GR13- 330	12,3	3,0	19,6	54,1	11,0
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.2	6	10GR13- 331	2,4	2,3	24,2	58,2	13,0
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.2	7		2,6	2,3	22,7	60,5	11,9
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.2	8	10GR13- 333	2,5	2,1	18,4	64,5	12,6
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.2	9	10GR13- 334	2,3	2,4	16,9	65,4	13,0
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.2	10		3,0	2,2	21,2	61,1	12,5
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.2	11		2,3	1,8	18,2	62,5	15,2
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.2	12		11,5	3,0	19,3	52,8	13,4
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.2	13		2,5	2,4	13,3	62,0	19,8
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.2	14		2,4	2,1	19,7	63,2	12,7

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.2	15		2,6	1,7	21,3	59,8	14,6
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.2	16	10GR13- 341	2,8	2,4	14,7	65,9	14,1
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.2	17		2,5	1,7	32,3	51,1	12,5
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.2	18		2,6	2,1	28,6	55,2	11,6
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.2	19		3,0	2,1	18,4	65,0	11,5
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.2	20		2,7	1,7	14,3	65,7	15,5
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.2	21		2,5	1,8	29,7	53,2	12,9
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.3	1	10GR13- 347	2,2	2,2	22,6	61,7	11,4
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.3	2		2,4	2,2	24,0	61,8	9,6
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.3	3		2,7	2,0	21,8	62,8	10,8
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.3	4		2,7	2,2	21,4	63,6	10,1
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.3	5		3,2	2,6	16,0	67,9	10,3
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.3	6		3,2	2,4	18,4	64,7	11,4
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.3	7	10GR13- 353	11,6	2,7	16,4	56,5	12,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.3	8		2,4	1,9	18,8	63,6	13,2
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.3	9	10GR13- 355	2,0	1,7	16,2	65,3	14,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.3	10		3,1	2,4	20,4	62,6	11,5
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.3	11						
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.3	12		12,2	2,7	11,9	53,3	19,9
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.3	13	10GR13- 359	12,1	2,4	12,3	57,9	15,2
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.3	14	10GR13- 360	3,2	2,2	20,0	63,5	11,2
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.3	15		2,4	2,2	16,0	65,7	13,6
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.3	16		2,2	2,2	16,4	64,2	14,9
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.3	17		2,3	1,7	23,2	60,3	12,5

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.3	18		2,4	1,6	27,5	57,2	11,3
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.3	19		2,6	1,8	20,6	63,6	11,5
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.3	20		2,7	2,5	18,0	65,6	11,2
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.3	21	10GR13- 367	2,3	2,3	13,7	67,3	14,5
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.4	1		2,1	2,1	24,9	60,9	10,0
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.4	2		2,6	2,2	33,0	54,1	8,1
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.4	3		2,6	2,0	30,0	55,6	9,8
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.4	4		2,8	2,0	42,3	44,8	8,2
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.4	5		11,0	2,8	33,3	44,3	8,6
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.4	6		11,1	2,3	16,6	55,8	14,2
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.4	7		2,4	1,8	20,4	63,7	11,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.4	8		2,8	1,7	22,4	60,8	12,3
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.4	9		10,9	2,5	24,5	50,8	11,3
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.4	10		2,4	1,8	23,9	59,9	11,9
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.4	11		2,2	1,9	20,8	62,5	12,6
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.4	12		11,0	2,5	24,6	51,3	10,6
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.4	13		11,3	2,8	18,3	54,2	13,4
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.4	14		11,1	2,7	20,1	55,8	10,3
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.4	15		2,3	1,5	16,2	64,4	15,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.4	16		11,7	2,2	15,3	58,5	12,2
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.4	17		2,6	1,8	23,3	60,9	11,4
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.4	18		11,5	2,5	24,4	49,9	11,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.4	19		11,0	2,6	22,6	52,3	11,5
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.4	20		11,3	2,5	19,0	55,2	12,1

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.11.4	21		2,8	1,9	27,1	57,1	11,1
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.12.2	1		2,4	2,0	29,5	56,9	9,2
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.12.2	2		2,4	2,1	37,9	48,3	9,3
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.12.2	3		11,6	3,0	23,4	53,3	8,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.12.2	4		11,7	2,8	23,1	53,1	9,4
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.12.2	5		11,8	3,1	21,3	55,0	8,8
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.12.2	6		2,2	1,7	28,0	56,5	11,6
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.12.2	7		11,7	2,7	14,6	57,2	13,8
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.12.2	8		12,2	2,5	15,0	53,8	16,5
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.12.2	9		11,4	2,3	14,6	56,0	15,8
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.12.2	10		2,7	1,7	33,5	49,7	12,4
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.12.2	11		10,8	2,9	40,5	34,7	11,1
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.12.2	12		2,4	1,7	30,9	50,2	14,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.12.2	13		2,4	2,4	42,6	41,7	10,9
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.12.2	14		11,7	2,9	16,7	53,1	15,6
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.12.2	15		2,4	1,9	18,3	64,7	12,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.12.2	16		2,2	2,1	28,4	54,7	12,6
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.12.2	17		2,4	2,1	20,0	62,8	12,7
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.12.2	18		11,5	2,6	26,9	46,8	12,2
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.12.2	19		2,6	2,4	41,6	43,2	10,2
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.12.2	20		2,7	1,9	25,1	56,6	13,8
159-fatBF	PHP41103	AFS 6671.12.2	21		2,5	1,7	23,1	59,7	12,9

Tabla 7g. Perfil de ácido graso para la semilla T1 analizada de la soja transformada con PHP41784, que contiene los amiARN 159-fad2-1b, 159-fatBf y 159-fad3c, cultivados en el invernadero.

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.2.2	1a		5,6	2,3	30,5	55,9	5,6
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.2.2	2a		4,3	2,2	54,3	35,9	3,4
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.2.2	3a		12,7	2,6	20,2	55,8	8,8
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.2.2	4a		4,1	2,2	50,2	39,1	4,4
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.2.2	5a		12,4	2,9	18,2	58,7	7,8
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.5.1	1a		11,3	3,1	28,8	51,0	5,9
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.5.1	2a		2,7	1,9	84,7	8,6	2,1
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.5.1	3a		2,6	2,0	88,1	6,1	1,2
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.5.1	4a		2,7	2,0	84,8	8,3	2,3
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.5.1	5a		2,4	2,0	88,5	5,9	1,1
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.5.2	1a		12,2	3,3	33,7	44,3	6,5
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.5.2	2a		2,7	2,8	86,6	6,2	1,7
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.5.2	3a		2,8	1,8	81,3	11,7	2,4
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.5.2	4a		2,2	1,6	91,2	3,6	1,4
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.5.2	5a		4,0	2,3	79,1	12,2	2,4
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.3	1a		12,9	2,6	27,1	51,7	5,7
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.3	2a		6,8	2,3	40,3	47,6	3,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.3	3a		4,1	2,3	48,0	42,1	3,4
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.3	4a		5,4	2,4	41,5	46,7	3,9
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.3	5a		2,3	2,1	86,9	6,7	2,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	1a		2,9	1,7	89,7	4,1	1,7
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	2a		2,3	1,9	91,0	3,9	0,9
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	3a		3,5	2,1	85,8	6,6	2,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	4a		2,8	1,9	89,9	4,5	1,0

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	5a		2,6	2,1	88,7	5,4	1,2
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	1		2,1	1,8	89,3	5,2	1,5
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	2		0,0	0,0	94,9	5,1	0,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	3		2,3	2,4	89,2	6,1	0,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	4		2,2	2,3	87,1	6,7	1,8
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	5		1,9	1,7	92,8	3,6	0,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	6		2,1	2,1	89,0	5,5	1,2
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	7		2,0	1,9	90,7	4,1	1,3
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	8		2,1	2,3	88,4	5,6	1,6
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	9		2,2	2,3	89,9	4,5	1,1
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	10		1,9	2,3	89,3	5,2	1,3
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	11		14,0	3,8	1,5	67,0	13,7
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	12		1,8	1,7	90,8	4,6	1,1
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	13		1,9	1,8	88,0	6,4	1,9
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	14		1,6	1,3	91,2	4,2	1,7
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	15		1,8	2,0	89,6	5,0	1,5
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	16		2,0	1,6	90,0	4,8	1,5
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	17		2,3	2,1	85,6	7,6	2,4
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	18		2,2	1,9	90,4	4,4	1,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	19		1,9	1,5	92,3	4,3	0,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	20		1,9	1,8	90,0	4,8	1,6
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	21		2,0	1,7	89,4	4,9	2,1
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	22		1,8	1,7	87,9	6,7	2,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	23		1,9	1,8	90,7	4,5	1,1
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.6.1	24		3,1	2,2	74,8	11,1	8,8
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	1a	10GR32 -1	2,5	1,9	79,2	12,3	4,2

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	2a		2,8	2,2	82,5	10,1	2,4
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	3a		2,7	2,2	82,1	10,7	2,3
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	4a		13,1	2,7	15,9	59,9	8,4
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	5a	10GR32 -2	2,5	1,9	78,7	12,9	4,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	1		2,5	2,3	80,6	14,6	0,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	2	10GR32 -4	10,7	3,1	15,3	59,7	11,2
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	3		2,6	2,2	73,4	17,6	4,1
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	4		2,3	2,1	85,5	7,3	2,9
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	5		2,2	1,9	90,1	5,8	0,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	6		2,5	2,1	80,1	11,7	3,5
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	7		2,2	2,1	83,8	8,5	3,3
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	8		2,3	2,0	82,4	9,7	3,7
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	9		2,6	2,1	78,8	12,1	4,4
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	10	10GR32 -11	2,0	2,3	79,3	12,7	3,8
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	11		0,0	0,0	77,4	22,6	0,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	12		11,4	3,4	14,0	59,1	12,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	13		12,2	3,6	1,5	64,0	18,7
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	14	10GR32 -13	10,9	3,3	14,7	58,6	12,5
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	15		2,5	2,1	85,8	9,6	0,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	16		2,2	1,9	79,8	12,3	3,9
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	17		13,6	3,9	1,7	65,6	15,2
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	18	10GR32 -16	10,8	3,1	15,8	59,7	10,7
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	19		2,0	2,1	85,7	10,2	0,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	20		2,4	2,1	75,5	15,9	4,2
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	21		12,6	3,7	1,5	69,3	13,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	22		11,6	2,7	12,8	60,9	12,1

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	23	10GR32 -19	2,5	2,1	71,3	19,6	4,6
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.1	24		2,3	2,3	81,5	10,4	3,5
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	1a	10GR32 -21	2,6	2,0	88,4	5,2	1,8
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	2a		12,9	3,1	14,1	58,3	11,5
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	3a		3,1	2,3	82,4	9,5	2,7
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	4a	10GR32 -22	2,5	2,1	90,7	3,4	1,5
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	5a		2,6	2,0	87,5	5,7	2,1
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	1		12,0	3,1	21,0	55,4	8,5
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	2	10GR32 -24	11,7	3,5	18,2	53,7	12,9
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	3	10GR32 -25	2,0	2,0	86,5	6,7	2,9
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	4		2,4	2,3	82,3	9,5	3,5
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	5		14,3	3,7	1,4	66,9	13,7
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	6		12,3	3,0	15,0	57,4	12,3
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	7	10GR32 -27	2,3	2,0	87,4	5,7	2,5
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	8	10GR32 -28	2,1	2,4	88,3	5,1	2,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	9		14,1	3,2	1,8	68,4	12,4
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	10		11,0	4,2	36,5	41,4	7,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	11		4,0	2,6	73,4	15,9	4,2
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	12		2,6	2,8	83,1	8,6	3,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	13		14,6	3,8	1,7	68,3	11,6
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	14	10GR32 -30	2,4	2,3	76,5	14,5	4,4
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	15		11,2	3,7	25,3	51,3	8,6
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	16		2,7	2,5	82,4	8,9	3,5
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	17	10GR32 -33	2,1	2,5	85,8	7,1	2,5
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	18		11,5	3,3	20,2	55,8	9,3
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	19	10GR32 -35	2,6	2,4	79,7	11,8	3,5

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	20		2,4	2,4	81,1	10,7	3,3
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	21	10GR32 -37	2,2	2,1	84,4	8,3	3,1
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	22		2,5	2,2	86,4	6,4	2,5
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	23		2,1	2,4	87,6	5,5	2,4
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6783.8.2	24	10GR32 -40	11,5	3,0	16,5	57,8	11,2
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	1a		2,5	1,9	90,3	3,5	1,7
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	2a		2,4	2,2	85,9	3,2	6,3
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	3a		2,8	1,7	89,5	4,0	2,1
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	4a	10GR32 -41	2,3	2,0	90,1	3,6	2,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	5a	10GR32 -42	2,2	1,9	90,4	3,2	2,2
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	1		13,3	3,5	1,5	69,8	12,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	2	10GR32 -43	10,3	2,5	23,8	53,3	10,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	3		2,1	2,1	86,1	6,4	3,3
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	4	10GR32 -45	2,2	2,4	89,5	4,1	1,8
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	5		13,5	3,3	1,6	64,2	17,3
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	6		2,3	1,9	87,6	3,1	5,1
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	7	10GR32 -46	2,1	1,7	89,8	0,8	5,7
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	8	10GR32 -47	1,8	2,0	90,1	4,0	2,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	9	10GR32 -48	2,0	2,2	89,7	3,1	2,9
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	10		2,2	1,8	87,4	3,7	5,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	11		14,3	3,2	1,8	67,6	13,2
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	12		2,0	1,8	90,5	3,9	1,7
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	13		2,1	2,0	87,9	4,9	3,2
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	14	10GR32 -52	1,9	2,1	89,7	3,4	2,9
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	15		2,4	2,4	86,0	6,7	2,5
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	16		2,0	1,7	87,9	5,2	3,3

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	17		10,4	2,5	33,1	47,2	6,8
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	18		2,3	2,2	87,2	5,3	2,9
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	19		10,2	2,8	24,2	57,0	5,8
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	20	10GR32 -56	2,2	2,3	85,2	7,1	3,2
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	21		12,8	3,7	1,7	73,3	8,5
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	22		2,0	1,5	91,9	2,9	1,7
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	23	10GR32 -59	1,9	2,2	90,8	3,5	1,5
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.1.1	24		2,0	1,6	92,5	2,4	1,5
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	1a		3,9	1,8	84,7	7,3	2,4
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	2a		3,9	2,1	76,0	15,6	2,4
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	3a	10GR32 -61	3,6	2,3	83,2	8,5	2,4
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	4a	10GR32 -62	12,1	2,8	18,8	58,4	8,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	5a		3,2	2,3	86,6	5,8	2,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	1		12,2	3,4	1,5	69,5	13,4
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	2	10GR32 -64	2,9	1,9	87,9	5,7	1,6
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	3	10GR32 -65	2,0	2,4	88,5	5,3	1,8
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	4	10GR32 -66	2,9	2,2	89,3	4,3	1,3
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	5		15,2	3,0	2,2	65,7	13,8
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	6	10GR32 -67	2,2	2,3	89,4	4,9	1,2
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	7	10GR32 -68	3,1	2,0	85,2	7,5	2,3
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	8		11,0	3,0	16,6	59,8	9,6
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	9		5,7	2,4	83,6	6,2	2,1
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	10		11,5	2,8	15,9	58,0	11,8
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	11		6,1	2,9	84,0	5,7	1,4
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	12	10GR32 -71	11,7	2,6	21,7	54,7	9,3
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	13	10GR32 -72	2,8	2,0	86,1	6,6	2,4

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	14	10GR32 -73	3,4	1,9	83,6	8,4	2,6
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	15		2,1	2,1	88,3	5,4	2,1
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	16	10GR32 -75	2,2	2,1	91,4	3,1	1,2
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	17		19,0	3,0	3,4	63,1	11,5
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	18	10GR32 -76	3,3	2,2	86,3	6,1	2,1
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	19	10GR32 -77	3,0	2,2	88,9	4,5	1,3
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	20	10GR32 -78	2,7	1,9	88,2	5,4	1,8
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	21		2,8	2,3	88,0	5,0	1,9
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	22		2,8	2,1	85,1	7,5	2,5
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	23		5,7	2,1	84,7	5,6	1,9
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.2.1	24		5,7	2,0	82,7	7,1	2,6
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	1a		3,3	2,0	78,1	14,3	2,2
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	2a		2,3	2,0	87,0	6,1	2,6
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	3a		2,9	2,4	88,2	4,9	1,6
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	4a		12,2	3,1	15,8	59,8	9,2
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	5a		2,3	2,3	87,4	5,4	2,7
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	1	10GR32 -82	12,0	2,8	13,6	60,4	11,3
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	2		2,1	2,5	87,8	4,4	3,2
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	3	10GR32 -84	12,1	3,3	1,5	67,5	15,6
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	4		2,4	2,4	84,2	7,9	3,1
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	5		2,0	2,1	87,2	5,1	3,6
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	6		2,5	2,5	88,8	4,3	1,8
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	7		2,0	1,9	86,2	6,1	3,8
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	8	10GR32 -87	2,3	2,3	84,7	7,6	3,1
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	9		1,9	2,2	87,9	4,7	3,2
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	10		10,7	2,7	18,9	57,8	9,8

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	11		2,3	2,2	87,1	5,0	3,5
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	12		2,3	2,4	87,1	5,2	3,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	13		2,7	2,4	76,2	13,8	4,9
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	14	10GR32 -91	2,0	2,3	88,1	4,7	2,9
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	15		2,0	2,3	88,8	4,0	2,9
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	16	10GR32 -93	1,9	2,0	89,3	4,3	2,4
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	17		2,0	2,2	88,5	4,3	3,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	18		2,1	2,0	87,3	5,4	3,2
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	19	10GR32 -96	1,9	2,4	89,6	4,0	2,1
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	20		2,2	2,2	86,5	5,8	3,4
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	21		2,2	1,8	80,9	11,1	4,1
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	22	10GR32 -99	2,3	2,2	88,6	4,5	2,3
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	23		2,0	1,8	80,0	7,3	8,9
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.3.2	24		2,3	2,0	84,3	9,3	2,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	1a		13,0	2,7	19,4	56,0	9,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	2a		11,6	2,8	19,4	58,7	7,6
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	3a		10,5	3,4	24,1	52,8	9,2
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	4a		2,3	2,4	85,1	8,0	2,2
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	5a		3,0	2,0	76,9	15,8	2,4
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	1		1,9	2,3	86,3	6,8	2,8
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	2		2,2	2,0	87,0	6,4	2,4
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	3		13,6	3,6	1,4	67,2	14,2
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	4		10,3	3,1	11,5	62,1	13,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	5		10,1	2,9	18,0	59,0	10,0
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	6		15,2	4,3	19,9	53,3	7,3
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	7		2,1	2,7	80,5	10,9	3,7

amiARN	Construcción	Evento	N.º de semill.	T1 Semilla plantada	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	8		2,4	2,2	80,7	10,7	3,9
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	9		2,7	2,1	81,0	11,7	2,6
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	10		10,5	2,9	19,5	59,2	7,9
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	11		13,5	3,2	1,5	70,8	10,9
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	12		11,5	3,2	13,5	60,9	10,9
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	13		2,5	2,1	82,6	9,6	3,3
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	14		2,6	2,3	78,4	12,8	3,9
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	15		3,4	2,1	67,0	22,8	4,7
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	16		10,0	3,0	23,9	54,9	8,2
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	17		10,7	2,9	18,3	58,7	9,4
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	18		3,2	2,0	59,5	30,2	5,2
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	19		2,2	2,7	84,0	8,4	2,7
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	20		9,7	2,5	25,7	53,9	8,1
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	21		3,2	2,2	74,3	16,5	3,9
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	22		10,1	3,2	15,2	61,1	10,4
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	23		2,8	2,0	72,7	18,6	3,9
159-fad2-1b/159-fatBf/159-fad3c	PHP41784A	AFS 6784.4.2	24		2,5	2,0	84,5	8,7	2,2

Análisis de perfiles de ácidos grasos de Semilla T2 de eventos que expresan amiARN cultivados en el invernadero

A las semillas T1 de eventos que tienen fenotipos que indican amiARN funcionales se plantaron y las plantas se cultivaron en el invernadero.

- 5 A la semilla T1 plantada de la soja transformada con PHP32510, que contiene el amiARN 369b-fad2-1 b o PHP32511, que contiene el amiARN 159-fad2-1 b, o PHP32843, que contiene los amiARN 369b-fad2-1 b y 159-fad2-2 se les dio una denominación de experimento 8GR31.

A la semilla T1 plantada de la soja transformada con PHP33705, que contiene los amiARN 396-fad2-1b y 396b-sad3, o PHP38557, que contiene el amiARN 159-fad3c, o PHP41103, que contiene el amiARN 159-fatBF se les dio una denominación de experimento 10GR13.

- 10 A la semilla T1 plantada de la soja transformada con PHP41784, que contiene los amiARN 159-fad2-1 b, 159-fatBF y 159-fad3c, se le dio una denominación de experimento 10GR32.

La semilla T2 de cada experimento se cultivó y aproximadamente 5 a 10 semillas de cada paquete de semillas T2 para cada evento donde la semilla T1 indicaba un fenotipo positivo, fueron cortadas y los ácidos grasos analizados mediante GC/FAME tal como se describe *inter alia*.

- 15 Esos paquetes de semillas donde la semilla T1 indicó un fenotipo negativo (semilla segregante nula) también fueron analizados pero en ese caso, menos que 5-10 semillas T2 se analizaron a veces.

El perfil de ácido graso para la semilla T2 analizada de la soja transformada con PHP32510, que contiene el amiARN 369b-fad2-1 b o PHP32511, que contiene el amiARN 159-fad2-1b se muestra en la Tabla 8.

- 20 El perfil de ácido graso para la semilla T2 analizada de la soja transformada con PHP32843, que contiene los amiARN 369b-fad2-1 b y 159-fad2-2 se muestra en la Tabla 9.

El perfil de ácido graso para la semilla T2 analizada de la soja transformada con PHP33705, que contiene los amiARN 396-fad2-1 b y 396b-sad3 se muestra en la Tabla 10.

El perfil de ácido graso para la semilla T2 analizada de la soja transformada con PHP38557, que contiene el amiARN 159-fad3c se muestra en la Tabla 11.

- 25 El perfil de ácido graso para la semilla T2 analizada de la soja transformada con PHP41103, que contiene el amiARN 159-fatBF se muestra en la Tabla 12.

El perfil de ácido graso para la semilla T2 analizada de la soja transformada con PHP41784, que contiene los amiARN 159-fad2-1b, 159-fatBFy 159-fad3c se muestra en la Tabla 13.

- 30 En las Tablas 8-13, se indica el nombre del amiARN en la construcción, así como el nombre de la construcción en sí. También se muestra en el evento el nombre para los paquetes de semillas T2 que fueron elegidos para análisis. A cada semilla T1 plantada también le fue dado un nombre de experimento (por ejemplo, 8GR31-1) el cual se mantuvo para cada paquete de semillas T2 cultivadas. Los datos mostrados en la Tabla 8-13 pertenecen a esos paquetes de semillas donde los perfiles de ácidos grasos de semilla indicaban que el paquete de semillas pertenecía a una planta homocigota (es decir, sin segregantes nulos) así como algunas de las cuales eran todas de tipo salvaje (nulas), donde Homoz Pos indica un paquete de semillas homocigotas, y Nulo indica un paquete segregante nulo de ese evento.
- 35

Tabla 8. Perfil de ácido graso para la semilla T2 analizada de la soja transformada con PHP32510, que contiene el amiARN 369b-fad2-1 b o PHP32511, que contiene el amiARN 159-fad2-1 b cultivado en el invernadero.

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.3	8GR31-16	1	11,9	3,1	26,6	53,6	4,7	Nulo
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.3	8GR31-16	2	12,1	3,3	11,0	62,3	11,2	Nulo
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.3	8GR31-16	3	11,4	3,2	15,0	62,9	7,5	Nulo
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.3	8GR31-16	4	12,7	3,8	12,5	60,7	10,2	Nulo
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.3	8GR31-16	5	11,2	3,0	17,8	61,5	6,5	Nulo
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.11	8GR31-7	1	14,6	3,5	13,7	60,9	7,2	Nulo
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.11	8GR31-7	2	14,0	3,8	7,7	62,5	12,0	Nulo
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.11	8GR31-7	3	14,1	3,4	35,3	42,9	4,4	Nulo
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.11	8GR31-7	4	13,5	3,7	21,6	55,2	6,0	Nulo
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.11	8GR31-7	5	13,6	3,2	16,4	60,0	6,8	Nulo
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.2.3	8GR31-2	1	9,0	3,8	78,6	4,7	3,9	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.2.3	8GR31-2	2	8,1	3,5	83,6	1,6	3,2	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.2.3	8GR31-2	3	8,0	3,3	83,5	1,6	3,6	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.2.3	8GR31-2	4	8,2	3,5	83,1	1,6	3,5	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.2.3	8GR31-2	5	7,5	3,5	84,4	1,5	3,2	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.2.3	8GR31-2	6	7,8	3,0	84,3	1,4	3,6	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.2.3	8GR31-2	7	8,0	2,8	83,7	1,7	3,8	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.2.3	8GR31-2	8	7,7	3,0	84,5	1,5	3,3	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.2.3	8GR31-2	9	7,3	3,2	85,0	1,2	3,3	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.2.3	8GR31-2	10	8,0	2,9	84,3	1,4	3,4	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.2.3	8GR31-3	1	7,6	3,5	84,2	1,4	3,2	Hom oz Pos

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.2.3	8GR31-3	2	8,1	3,2	84,0	1,3	3,3	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.2.3	8GR31-3	3	8,0	3,3	83,8	1,4	3,5	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.2.3	8GR31-3	4	8,0	3,3	83,2	1,5	4,0	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.2.3	8GR31-3	5	7,6	3,5	84,1	1,3	3,5	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.6	8GR31-19	1	7,9	3,4	83,8	1,3	3,7	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.6	8GR31-19	2	7,5	3,7	83,9	1,4	3,5	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.6	8GR31-19	3	7,5	4,0	84,2	1,2	3,2	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.6	8GR31-19	4	7,3	3,9	84,6	1,4	2,9	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.6	8GR31-19	5	7,5	3,1	84,9	1,3	3,2	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.6	8GR31-19	6	8,1	3,2	83,3	1,5	3,8	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.6	8GR31-19	7	8,0	3,6	80,2	3,3	4,8	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.6	8GR31-19	8	7,8	3,2	83,7	1,5	3,7	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.6	8GR31-19	9	6,9	4,1	84,8	1,3	3,0	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.3.6	8GR31-19	10	7,7	3,3	84,0	1,3	3,7	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.5	8GR31-24	1	7,6	3,3	85,2	1,2	2,7	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.5	8GR31-24	2	8,6	3,0	84,5	1,0	2,9	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.5	8GR31-24	3	8,3	3,3	83,4	1,2	3,9	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.5	8GR31-24	4	7,8	3,5	83,8	1,3	3,5	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.5	8GR31-24	5	8,0	3,4	84,9	1,2	2,5	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.5	8GR31-25	1	7,9	3,1	84,7	1,1	3,2	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.5	8GR31-25	2	8,4	3,2	84,0	1,3	3,2	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.5	8GR31-25	3	7,7	3,6	84,0	1,2	3,5	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.5	8GR31-25	4	8,2	3,4	84,2	1,0	3,3	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.5	8GR31-25	5	7,8	3,2	84,9	1,1	2,9	Hom oz Pos

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.5	8GR31-25	6	7,9	3,1	85,2	1,2	2,7	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.5	8GR31-25	7	8,2	2,9	85,1	1,0	2,8	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.5	8GR31-25	8	7,7	2,9	85,7	1,0	2,6	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.5	8GR31-25	9	7,3	3,1	85,8	0,9	2,8	Hom oz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510	AFS 5260.4.5	8GR31-25	10	7,6	3,4	84,4	1,2	3,4	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.1.4	8GR31-58	1	8,3	3,1	83,3	1,4	3,9	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.1.4	8GR31-58	2	8,0	3,5	82,6	1,7	4,3	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.1.4	8GR31-58	3	7,5	4,0	82,1	1,7	4,6	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.1.4	8GR31-58	4	7,4	3,5	84,1	1,4	3,5	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.1.4	8GR31-58	5	8,1	3,3	83,7	1,6	3,4	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.1.4	8GR31-59	1	7,9	3,5	84,2	1,5	2,9	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.1.4	8GR31-59	2	7,8	3,3	84,0	1,5	3,4	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.1.4	8GR31-59	3	8,5	3,9	81,6	1,9	4,0	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.1.4	8GR31-59	4	7,8	3,2	84,6	1,5	2,9	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.1.4	8GR31-59	5						Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.1.4	8GR31-59	6	8,2	3,2	81,3	3,4	4,0	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.1.4	8GR31-59	7	8,1	3,0	84,3	1,6	3,1	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.1.4	8GR31-59	8	8,0	3,3	82,5	1,8	4,4	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.1.4	8GR31-59	9	8,2	3,2	83,9	1,3	3,5	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.1.4	8GR31-59	10	8,0	3,2	82,4	2,8	3,7	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.1.4	8GR31-61	1	7,7	3,6	82,6	2,0	4,1	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.1.4	8GR31-61	2	7,8	3,3	83,9	1,6	3,4	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.1.4	8GR31-61	3	7,8	3,6	83,0	1,7	3,7	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.1.4	8GR31-61	4	8,1	3,4	83,1	1,7	3,7	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.1.4	8GR31-61	5	7,7	3,7	83,6	1,6	3,5	Hom oz Pos

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.5.8	8GR31-38	1	7,5	3,5	84,7	1,3	3,1	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.5.8	8GR31-38	2	7,8	3,6	83,9	1,2	3,4	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.5.8	8GR31-38	3	8,1	3,1	84,9	1,3	2,7	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.5.8	8GR31-38	4	8,4	3,8	83,4	1,5	2,9	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.5.8	8GR31-38	5	8,4	3,1	83,7	1,1	3,7	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.5.8	8GR31-38	6	8,0	3,1	84,3	1,2	3,4	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.5.8	8GR31-38	7	8,4	3,3	83,8	1,4	3,0	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.5.8	8GR31-38	8	8,3	3,1	84,0	1,1	3,4	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.5.8	8GR31-38	9	8,7	2,7	85,3	1,4	2,0	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.5.8	8GR31-38	10	7,9	3,1	84,5	1,2	3,3	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.6.5	8GR31-67	1	9,4	3,3	82,5	1,3	3,5	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.6.5	8GR31-67	2	9,1	3,1	82,9	1,2	3,7	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.6.5	8GR31-67	3	8,5	3,4	81,1	2,3	4,8	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.6.5	8GR31-67	4	8,2	3,0	83,5	1,5	3,8	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.6.5	8GR31-67	5	8,7	3,0	84,4	1,0	2,9	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.6.5	8GR31-67	6	8,5	2,8	82,3	1,8	4,6	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.6.5	8GR31-67	7	8,5	2,8	83,7	1,3	3,7	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.6.5	8GR31-67	8	8,1	3,1	82,9	1,5	4,4	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.6.5	8GR31-67	9	8,2	3,1	81,8	2,1	4,8	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.6.5	8GR31-67	10	8,3	2,9	83,9	1,5	3,4	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-73	1	7,9	3,3	84,3	1,3	3,2	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-73	2	8,2	3,3	83,7	1,2	3,6	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-73	3	8,1	3,4	83,8	1,3	3,4	Hom oz Pos

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-73	4	8,8	3,1	83,2	1,3	3,7	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-73	5	8,7	3,4	82,9	1,3	3,8	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-74	1						Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-74	2	7,5	3,3	84,6	1,2	3,4	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-74	3	8,4	3,1	83,7	1,3	3,5	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-74	4	8,4	3,0	83,2	1,6	3,8	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-74	5	8,2	3,1	80,6	4,0	4,2	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-74	6	7,7	3,0	85,3	0,9	3,1	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-74	7	8,4	3,2	83,9	1,2	3,3	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-74	8	7,8	3,0	84,5	1,2	3,5	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-74	9	8,2	3,1	84,4	1,2	3,1	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-74	10	8,2	2,9	84,7	1,0	3,2	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-75	1	8,9	3,1	82,5	1,4	4,1	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-75	2	7,9	3,1	84,7	1,1	3,2	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-75	3	8,6	3,3	83,6	1,2	3,4	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-75	4	8,4	3,7	81,7	1,4	4,8	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-75	5	8,3	3,1	82,8	1,3	4,4	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-76	1	7,7	3,1	85,0	1,1	3,0	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-76	2	8,3	3,3	83,8	1,2	3,4	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-76	3	8,3	3,1	83,6	1,2	3,9	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-76	4	7,6	3,4	84,5	1,3	3,3	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-78	1	8,0	3,2	84,0	1,7	3,0	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-78	2	8,3	2,8	85,4	1,0	2,5	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-78	3	8,6	3,3	82,9	1,2	4,1	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-78	4	8,3	3,5	83,9	1,1	3,3	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.2	8GR31-78	5	9,0	3,4	82,2	1,4	4,0	Hom oz Pos

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.6	8GR31-42	1	8,0	3,5	83,2	1,5	3,9	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.6	8GR31-42	2	7,6	3,5	84,6	1,2	3,0	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.6	8GR31-42	3	7,3	3,7	84,9	1,1	3,1	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.6	8GR31-42	4	8,3	3,7	84,0	1,3	2,8	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.6	8GR31-42	5	8,7	3,8	83,2	1,5	2,8	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.6	8GR31-44	1	7,8	3,6	83,9	1,2	3,4	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.6	8GR31-44	2						Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.6	8GR31-44	3	8,0	3,4	83,6	1,4	3,6	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.6	8GR31-44	4	8,2	3,4	84,1	1,1	3,2	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.6	8GR31-44	5	8,2	3,5	83,1	1,9	3,3	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.6	8GR31-44	6	8,0	3,3	83,8	1,3	3,6	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.6	8GR31-44	7	7,7	3,7	84,0	1,2	3,4	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.6	8GR31-44	8	7,7	3,6	84,1	1,4	3,3	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.6	8GR31-44	9	7,6	3,3	84,5	1,2	3,3	Hom oz Pos
159-fad2-1b	PHP32511	AFS 5292.7.6	8GR31-44	10	7,8	3,3	84,2	1,2	3,4	Hom oz Pos

La Tabla 8 muestra que la semilla T2 de segregantes nulos tienen contenido de ácido oleico que varía de 7.7% a 35% que se encuentra en el intervalo de la semilla Jack que varía de 12.7% a 17.9% (ver la Tabla 12). La semilla T2 de eventos que expresan el amiARN 396b-fad2-1 b tienen ácido oleico que varía de 78.6% a 85% y la semilla T2 de eventos que expresan el amiARN 159-fad2-1b tienen contenido de ácido oleico que varía de 80.2% a 85.8%.

Tabla 9: Perfil de ácido graso para la semilla T2 analizada de la soja transformada con PHP32843, que contiene los amiARN 369b-fad2-1 b y 159-fad2-2 cultivados en el invernadero.

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.2. 2	8GR3 1-140	1	7,5	3,0	87,2	0,4	1,7	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.2. 2	8GR3 1-140	2	7,9	2,9	85,5	0,5	1,9	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.2. 2	8GR3 1-140	3	7,7	2,8	87,4	0,3	1,7	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.2. 2	8GR3 1-140	4	8,2	3,0	85,5	0,6	1,9	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.2. 2	8GR3 1-140	5	7,8	3,1	86,9	0,4	1,6	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.2. 2	8GR3 1-140	6	7,6	2,7	86,2	0,4	1,6	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.2. 2	8GR3 1-140	7	7,8	3,1	86,7	0,4	1,8	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.2. 2	8GR3 1-140	8	8,2	2,9	85,1	0,4	1,9	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.2. 2	8GR3 1-140	9	7,3	3,2	87,3	0,3	1,7	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.2. 2	8GR3 1-140	10	7,7	3,2	85,7	0,5	1,8	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.2. 3	8GR3 1-145	1	7,5	3,2	86,4	0,8	2,0	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.2. 3	8GR3 1-145	2	8,0	3,0	85,6	0,4	1,8	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.2. 3	8GR3 1-145	3	8,0	2,9	87,0	0,4	1,6	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.2. 3	8GR3 1-145	4	7,6	2,7	86,5	0,4	1,8	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.2. 3	8GR3 1-145	5	7,4	2,9	87,6	0,3	1,7	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.2. 3	8GR3 1-145	6	7,4	2,9	86,5	0,4	1,6	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.2. 3	8GR3 1-145	7	7,4	3,3	87,0	0,3	1,8	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.2. 3	8GR3 1-145	8	7,0	2,9	87,2	0,3	1,5	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.2. 3	8GR3 1-145	9	7,3	2,9	87,4	0,3	1,8	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.2. 3	8GR3 1-145	10	7,3	3,1	86,2	0,4	1,8	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.3. 8	8GR3 1-156	1	7,4	3,4	86,4	0,4	2,2	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.3. 8	8GR3 1-156	2	9,3	3,1	82,3	0,7	3,3	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.3. 8	8GR3 1-156	3	8,1	2,9	86,6	0,3	2,0	Homoz Pos

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.3. 8	8GR3 1-156	4	6,9	3,2	86,6	0,5	1,7	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.3. 8	8GR3 1-156	5	8,1	3,3	85,3	0,4	2,6	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.3. 8	8GR3 1-156	6	7,3	3,1	85,9	0,4	2,0	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.3. 8	8GR3 1-156	7	6,7	3,1	87,9	0,3	1,8	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.3. 8	8GR3 1-156	8	7,5	3,5	85,1	0,5	2,0	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.3. 8	8GR3 1-156	9	6,7	3,3	87,6	0,4	1,8	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.3. 8	8GR3 1-156	10	8,0	3,4	84,7	0,5	2,3	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.3. 8	8GR3 1-157	1	6,8	3,3	86,9	0,5	2,2	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.3. 8	8GR3 1-157	2	7,1	3,2	86,0	0,4	1,8	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.3. 8	8GR3 1-157	3	7,2	2,7	87,5	0,4	1,9	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.3. 8	8GR3 1-157	4	7,1	3,3	88,0	0,4	0,0	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.3. 8	8GR3 1-157	5	7,0	2,9	87,5	0,4	2,0	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.3. 8	8GR3 1-157	6	6,6	3,8	86,1	0,4	1,7	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.3. 8	8GR3 1-157	7	7,4	2,9	87,5	0,3	1,8	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.3. 8	8GR3 1-157	8	6,9	2,5	86,8	0,7	2,1	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.3. 8	8GR3 1-157	9	7,1	2,8	87,7	0,3	1,8	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159-fad2-2	PHP3284 3	AFS 5396.3. 8	8GR3 1-157	10	7,1	3,2	85,6	0,7	2,3	Homoz Pos

La Tabla 9 muestra que la semilla T2 de eventos que expresan los amiARN 369b-fad2-1 b y 159-fad2-2 tienen contenido de ácido oleico que varía de 82.3% a 88.0%. Estos contenidos de ácido oleico son más altos que los observados para los amiARN 396b-fad2-1 b o 159-fad2-1 b cuando se expresan individualmente.

Tabla 10: Perfil de ácido graso para la semilla T2 analizada de la soja transformada con PHP33705, que contiene los amiARN 396-fad2-1 b y 396b-sad3 cultivados en el invernadero.

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.2	10G R13-7	1	10,2	3,9	13,6	60,2	12,0	Nulo
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.2	10G R13-7	2	10,8	3,6	13,3	62,3	10,0	Nulo
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.2	10G R13-8	1	10,5	3,4	16,3	61,0	8,7	Nulo
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.2	10G R13-8	2	11,0	2,9	17,2	60,7	8,2	Nulo
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.2	10G R13-6	1	6,4	11,4	75,4	1,8	5,0	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.2	10G R13-6	2	5,8	12,9	73,2	2,0	6,0	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.2	10G R13-6	3	6,2	14,2	72,7	1,8	5,1	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.2	10G R13-6	4	5,7	17,8	69,1	1,8	5,5	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.2	10G R13-6	5	5,5	13,6	72,3	2,5	6,1	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.2	10G R13-6	6	6,1	12,8	73,4	2,1	5,6	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.2	10G R13-6	7	5,6	13,6	73,2	2,1	5,5	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.2	10G R13-6	8	6,2	11,4	74,1	2,4	5,9	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.2	10G R13-6	9	6,4	13,2	73,8	2,1	4,6	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.2	10G R13-6	10	6,0	13,2	73,9	1,8	5,2	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-17	1	10,1	3,8	14,8	59,2	12,0	Nulo
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-17	2	12,3	3,4	16,8	57,9	9,7	Nulo
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-14	1	6,6	10,3	71,9	3,4	7,8	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-14	2	6,1	11,2	74,1	2,9	5,7	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-14	3	5,0	13,5	72,2	3,0	6,4	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-14	4	6,2	10,5	76,0	1,9	5,4	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-14	5	5,9	12,1	74,6	1,7	5,7	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-14	6	5,5	13,5	74,6	1,7	4,7	Homoz Pos

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-14	7	5,1	12,9	73,5	2,5	5,9	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-14	8	5,4	13,4	73,7	2,2	5,2	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-14	9	5,6	13,0	70,6	3,6	7,1	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-14	10	5,7	12,4	74,8	1,7	5,3	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-15	1	5,8	10,6	77,2	1,7	4,6	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-15	2	6,2	11,8	73,4	2,7	5,9	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-15	3	5,5	10,7	76,6	1,9	5,3	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-15	4	5,8	10,7	77,5	1,6	4,4	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-15	5	5,6	11,3	76,8	1,7	4,7	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-15	6	5,4	13,9	75,1	1,3	4,3	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-15	7	5,6	12,7	73,7	2,5	5,4	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-15	8	5,9	12,3	72,8	3,0	6,0	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-15	9	5,3	11,7	77,3	1,5	4,2	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-15	10	5,5	14,0	72,5	2,8	5,2	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-16	1	6,8	8,0	78,8	1,7	4,6	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-16	2	6,4	9,6	76,7	2,0	5,3	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-16	3	6,6	8,5	78,5	1,6	4,8	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-16	4	6,6	8,4	78,7	1,5	4,7	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-16	5	6,2	10,7	77,4	1,5	4,2	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-16	6	6,6	8,6	78,9	1,5	4,4	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-16	7	6,5	10,1	77,8	1,1	4,5	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-16	8	6,3	9,4	78,2	1,5	4,6	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-16	9	6,3	10,5	77,3	1,6	4,4	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-16	10	6,4	8,5	78,5	1,5	5,1	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-19	1	6,6	9,9	74,5	3,1	5,9	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-19	2	6,8	8,5	74,7	3,5	6,5	Homoz Pos

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-19	3	5,4	10,5	76,2	2,4	5,5	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-19	4	6,1	11,1	75,4	2,4	5,0	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-19	5	6,8	9,4	73,1	4,0	6,7	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-19	6	6,4	9,1	77,6	1,9	4,9	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-19	7	5,4	11,1	76,9	1,6	5,0	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-19	8	6,2	8,6	78,3	1,9	5,0	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-19	9	6,1	11,2	73,0	3,4	6,4	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-19	10	5,8	11,6	74,9	2,3	5,4	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-20	1	5,2	11,3	77,8	1,4	4,3	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-20	2	6,2	8,1	79,1	1,6	4,9	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-20	3	6,0	10,4	77,9	1,5	4,2	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-20	4	6,4	9,7	75,4	2,6	5,9	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-20	5	5,2	10,9	78,0	1,5	4,4	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-20	6	6,3	9,9	74,9	2,9	6,1	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-20	7	6,3	10,0	76,6	2,0	5,1	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-20	8	6,7	9,1	77,4	1,9	5,0	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-20	9	5,3	10,1	76,4	2,7	5,5	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-20	10	5,5	13,3	73,7	2,3	5,1	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-23	1	6,6	9,8	76,6	2,1	4,9	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-23	2	6,3	10,9	76,3	1,8	4,7	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-23	3	6,7	17,3	68,8	1,7	5,6	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-23	4	5,7	11,2	76,3	1,7	5,1	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-23	5	6,3	11,5	75,2	1,7	5,3	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-23	6	6,7	9,1	76,8	2,1	5,3	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-23	7	6,8	10,8	75,1	1,9	5,4	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-23	8	6,2	12,6	75,4	1,4	4,4	Homoz Pos

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-23	9	5,8	10,4	77,1	1,7	5,0	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 3.4	10G R13-23	10	6,1	9,5	77,7	1,7	5,0	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-48	1	10,4	4,2	16,1	59,0	10,3	Nulo
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-48	2	12,2	3,8	14,4	57,8	11,8	Nulo
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-53	1	10,5	4,4	18,3	57,6	9,1	Nulo
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-53	2	11,8	3,7	15,5	59,3	9,7	Nulo
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-54	1	5,6	14,5	71,5	2,6	5,8	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-54	2	5,6	18,0	68,7	1,9	5,8	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-54	3	5,5	12,7	74,6	1,9	5,3	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-54	4	5,5	17,8	69,1	2,2	5,3	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-54	5	5,6	17,2	70,0	1,9	5,3	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-54	6	5,9	21,0	66,2	1,6	5,3	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-54	7	5,1	17,4	69,9	2,1	5,5	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-54	8	5,7	18,5	68,1	2,2	5,5	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-54	9	5,8	15,7	71,1	2,1	5,3	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-54	10	5,3	18,9	68,6	1,9	5,4	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-56	1	5,7	17,3	70,0	2,0	5,0	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-56	2	5,5	16,3	71,2	2,1	4,9	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-56	3	5,5	19,1	66,7	2,4	6,3	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-56	4	5,4	21,4	64,8	2,4	6,0	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-56	5	6,1	15,9	69,5	2,2	6,2	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-56	6	5,5	13,1	75,3	1,8	4,3	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-56	7	4,9	17,6	71,1	2,0	4,4	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-56	8	5,1	16,1	71,8	2,1	5,0	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-56	9	4,8	17,0	70,0	2,0	6,2	Homoz Pos

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-56	10	5,4	17,9	69,2	2,0	5,6	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-60	1	6,1	13,3	67,7	5,7	7,2	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-60	2	4,9	12,9	76,0	1,6	4,7	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-60	3	4,5	15,4	72,5	2,0	5,6	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-60	4	5,2	12,9	74,7	2,0	5,1	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-60	5	6,2	14,2	71,2	2,3	6,1	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-60	6	5,6	11,3	75,9	1,8	5,4	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-60	7	4,8	17,5	71,7	1,6	4,5	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-60	8	5,2	15,2	71,4	2,4	5,8	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-60	9	6,1	10,9	74,3	2,2	6,5	Homoz Pos
396-fad2-1b/396b-sad3	PHP3 3705	AFS 5489. 4.1	10G R13-60	10	4,7	15,3	73,3	2,0	4,6	Homoz Pos

La Tabla 10 muestra que la semilla T2 de eventos que expresan los amiARN 396-fad2-1 b y 396b-sad3 tienen contenido de ácido palmítico que varía de 8.0% a 22.4% y tienen contenido de ácido oleico que varía de 74.0% a 79.1%. La semilla T2 de la semilla segregante nula tiene contenido de ácido palmítico que varía de 2.9% a 4.4% y tiene contenido de ácido oleico que varía de 13.3% a 20.1% que se encuentra en el intervalo para la semilla Jack donde el ácido palmítico varía de 11.8% a 12.6% y el ácido oleico varía de 12.7% a 17.9% (ver la Tabla 12).

5

Tabla 11: Perfil de ácido graso para la semilla T2 analizada de la soja transformada con PHP38557, que contiene el amiARN 159-fad3c cultivado en el invernadero.

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-66	1	11,5	3,0	22,2	54,9	8,3	Nulo
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-66	2	11,1	2,9	20,7	56,7	8,7	Nulo
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-70	1	10,2	3,4	18,3	59,8	8,2	Nulo
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-70	2	10,8	2,9	15,3	61,7	9,4	Nulo
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-63	1	11,7	3,5	18,8	64,9	1,1	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-63	2	10,7	3,9	15,6	68,8	1,0	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-63	3	10,2	3,1	18,6	66,7	1,3	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-63	4	11,6	3,6	17,6	66,0	1,2	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-63	5	11,2	3,3	16,0	68,4	1,2	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-63	6	11,5	2,9	21,4	63,2	1,0	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-63	7	11,5	3,2	16,9	67,2	1,2	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-63	8	11,5	2,9	18,3	66,3	1,0	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-63	9	11,3	3,1	19,8	64,7	1,1	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-63	10	12,8	3,5	16,4	66,1	1,2	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-65	1	12,0	3,2	15,9	66,8	2,1	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-65	2	12,0	3,0	16,8	66,4	1,8	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-65	3	12,0	3,3	17,2	65,9	1,6	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-65	4	12,1	3,0	18,7	64,6	1,6	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-65	5	11,8	3,2	17,4	65,8	1,8	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-65	6	13,2	3,1	17,8	64,6	1,4	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-65	8	12,6	3,2	15,1	66,7	2,3	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-65	9	13,3	3,7	15,2	66,3	1,5	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-65	10	12,6	3,5	15,9	66,6	1,4	Homoz Pos

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-73	1	11,4	3,4	19,4	64,7	1,1	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-73	2	12,3	3,2	15,9	67,1	1,5	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-73	3	11,4	3,2	16,5	67,7	1,3	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-73	4	12,8	3,5	19,8	62,8	1,1	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-73	5	11,0	3,7	14,8	69,2	1,3	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-73	6	12,3	3,8	19,2	63,7	1,0	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-73	7	11,2	3,7	19,4	64,6	1,1	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-73	8	11,2	3,5	16,7	67,4	1,2	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-73	9	12,3	3,6	18,0	64,8	1,3	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.1.4	10GR1 3-73	10	11,1	3,6	18,2	66,0	1,1	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-81	1	10,4	2,9	20,6	58,3	7,8	Nulo
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-81	2	11,0	3,0	19,3	58,2	8,4	Nulo
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-82	1	12,0	2,9	12,0	59,3	13,7	Nulo
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-82	2	11,7	3,4	23,5	53,9	7,5	Nulo
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-83	1	11,8	3,0	16,7	67,3	1,2	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-83	2	12,1	3,3	15,2	68,3	1,1	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-83	3	11,2	3,1	15,6	68,8	1,3	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-83	4	11,6	3,0	15,6	68,5	1,3	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-83	5	12,0	3,0	18,4	65,4	1,1	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-83	6	12,2	3,7	18,1	64,9	1,0	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-83	7	11,6	3,1	19,0	65,3	1,0	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-83	8	12,0	3,2	15,1	68,3	1,4	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-83	9	12,1	3,1	14,0	69,2	1,6	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-83	10	11,7	3,3	17,0	67,0	1,1	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-90	1	12,6	3,2	19,8	63,4	1,0	Homoz Pos

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-90	2	11,8	3,0	19,0	64,9	1,3	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-90	3	10,5	2,6	14,8	70,7	1,4	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-90	4	11,2	3,0	11,9	72,4	1,5	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-90	5	11,1	2,9	17,9	67,0	1,2	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-90	6	12,0	2,8	20,1	64,2	1,0	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-90	7	13,6	3,6	13,1	68,2	1,5	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-90	8	10,8	2,9	15,9	69,0	1,4	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-90	9	11,9	2,6	20,3	64,0	1,2	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-90	10	12,3	3,2	20,7	62,6	1,2	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-91	1	10,8	3,0	28,2	57,0	1,0	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-91	2	11,1	3,3	21,3	63,3	1,1	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-91	3	10,9	2,9	19,3	65,8	1,2	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-91	4	11,0	3,0	18,5	66,2	1,2	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-91	5	10,9	2,6	22,4	62,9	1,2	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-91	6	11,1	3,0	22,2	62,7	1,0	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-91	7	10,4	3,5	16,5	68,3	1,3	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-91	8	12,0	3,5	24,1	59,7	0,8	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-91	9	13,8	3,9	23,2	58,2	0,9	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-91	10	11,7	2,8	23,9	60,7	0,9	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-93	1	11,6	2,9	20,8	63,5	1,1	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-93	2	11,2	2,8	20,2	64,3	1,5	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-93	3	10,3	3,1	18,6	66,3	1,7	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-93	4	10,8	2,7	18,3	66,5	1,7	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-93	5	11,2	2,6	20,0	64,8	1,4	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-93	6	10,2	2,9	21,8	63,7	1,4	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-93	7	10,8	2,9	19,5	65,8	1,1	Homoz Pos

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-93	8	9,9	2,9	21,8	64,2	1,3	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-93	9	11,2	2,8	17,9	66,5	1,7	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-93	10	10,5	2,9	24,5	60,8	1,3	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-94	1	11,1	2,9	20,7	64,3	1,0	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-94	2	11,4	3,3	16,0	68,0	1,3	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-94	3	11,0	3,0	18,5	66,4	1,1	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-94	4	10,9	3,0	19,5	65,7	1,0	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-94	5	11,4	2,8	16,3	68,5	1,2	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-94	6	11,2	3,1	17,7	66,8	1,1	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-94	7	12,0	3,3	14,3	68,9	1,4	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-94	8	11,4	2,9	18,8	65,7	1,1	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-94	9	11,4	3,2	19,7	64,7	1,1	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.1	10GR1 3-94	10	11,6	3,1	20,0	64,3	1,0	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-107	1	11,0	3,8	19,5	58,2	7,6	Nulo
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-107	2	11,9	3,5	20,2	56,7	7,7	Nulo
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-109	1	11,2	3,3	16,3	59,7	9,5	Nulo
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-109	2	12,1	3,3	14,6	59,3	10,7	Nulo
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-95	1	10,9	2,8	16,7	68,4	1,2	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-95	2	11,8	3,5	18,7	65,0	1,0	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-95	3	11,7	3,9	18,6	64,9	0,9	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-95	4	11,3	2,4	24,0	61,4	1,0	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-95	5	11,9	2,9	19,3	64,8	1,0	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-95	6	11,7	2,8	13,9	70,3	1,3	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-95	7	11,4	3,0	18,2	66,3	1,2	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-95	8	11,8	3,9	13,6	69,4	1,4	Homoz Pos

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-95	9	12,5	2,9	16,9	66,4	1,3	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-95	10	11,0	2,9	16,7	68,3	1,1	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-96	1	12,6	3,7	14,6	66,4	2,8	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-96	2	12,4	3,8	13,0	68,1	2,7	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-96	3	12,3	3,4	12,9	69,2	2,2	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-96	4	12,9	3,9	11,9	67,6	3,7	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-96	5	11,9	3,6	12,9	69,0	2,7	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-96	6	12,2	3,5	12,6	67,9	3,8	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-96	7	13,1	4,6	11,5	66,6	4,2	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-96	8	12,7	3,7	12,7	68,6	2,3	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-96	9	12,9	3,6	12,3	68,4	2,7	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-96	10	12,0	3,4	15,9	66,5	2,3	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-97	1	11,6	3,8	18,9	64,3	1,5	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-97	2	11,4	3,3	16,2	67,2	1,9	Homoz Pos
159-fad 3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-97	3	10,8	3,4	14,8	69,1	1,9	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-97	4	11,6	3,6	18,2	64,7	1,9	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-97	5	11,8	3,4	14,8	67,8	2,2	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-97	6	11,1	3,8	15,6	67,6	1,9	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-97	7	11,6	3,4	16,2	66,7	2,1	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-97	8	11,8	3,5	13,3	69,1	2,3	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-97	9	12,4	3,7	15,0	66,7	2,2	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-97	10	11,8	3,3	14,6	68,4	1,9	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-98	1	11,6	3,4	16,7	66,6	1,7	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-98	2	11,2	3,7	15,5	67,9	1,7	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-98	3	11,7	3,4	17,1	66,2	1,6	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-98	4	12,2	3,5	17,2	65,6	1,4	Homoz Pos

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-98	5	11,8	3,4	15,2	67,8	1,7	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-98	6	11,9	3,6	14,9	67,5	2,1	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-98	7	11,4	3,6	16,1	67,2	1,8	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-98	8	11,7	3,6	16,6	66,6	1,5	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-98	9	12,0	3,6	17,7	65,2	1,5	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-98	10	11,7	3,5	15,1	67,7	2,0	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-101	1	11,3	3,6	17,5	66,1	1,6	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-101	2	11,8	3,5	16,3	66,4	2,0	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-101	3	11,2	3,5	16,7	66,2	2,4	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-101	4	11,3	3,4	16,8	66,9	1,6	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-101	5	11,8	3,5	16,6	66,1	1,9	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-101	6	11,8	3,6	14,0	68,4	2,3	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-101	7	11,6	3,5	16,2	66,2	2,5	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-101	8	11,5	3,7	14,9	67,2	2,7	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-101	9	12,0	3,6	14,6	66,6	3,1	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-101	10	12,2	3,2	14,6	68,0	2,0	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-102	1	11,4	3,3	14,9	67,5	2,9	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-102	2	11,2	3,5	15,8	67,7	1,8	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-102	3	11,1	3,6	21,6	61,9	1,9	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-102	4	11,2	3,8	18,6	64,2	2,2	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-102	5	11,1	3,6	15,8	67,5	2,0	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-102	6	10,6	3,5	15,3	68,8	1,9	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-102	7	11,2	3,3	17,6	66,3	1,6	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-102	8	10,8	3,2	17,9	65,8	2,2	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-102	9	11,6	3,1	18,4	65,3	1,5	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-102	10	11,6	3,2	16,5	66,9	1,8	Homoz Pos

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-103	1	11,4	3,4	14,4	68,5	2,2	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-103	2	11,1	3,5	16,2	67,6	1,6	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-103	3	11,6	3,5	13,7	67,9	3,3	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-103	4	11,2	3,3	15,6	68,1	1,9	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-103	5	11,7	3,3	14,1	67,1	3,8	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-103	6	11,0	3,7	13,9	68,8	2,6	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-103	7	11,0	3,6	13,5	68,4	3,5	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-103	8	11,4	3,1	14,8	67,7	2,9	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-103	9	11,5	3,6	13,9	67,7	3,3	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-103	10	12,1	3,7	15,1	66,0	3,1	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-104	1	12,3	3,5	12,5	68,8	2,9	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-104	2	10,9	3,3	15,2	68,6	2,0	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-104	3	11,3	3,6	14,0	68,9	2,3	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-104	4	12,2	3,5	13,3	67,0	3,9	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-104	5	12,8	3,8	13,2	66,7	3,4	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-104	6	11,0	3,3	16,1	67,9	1,7	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-104	7	12,6	3,7	12,2	67,0	4,4	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-104	8	12,2	3,6	13,0	68,5	2,7	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-104	9	13,2	3,8	13,3	65,8	4,0	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-104	10	11,4	3,4	13,2	68,5	3,5	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-106	1	11,4	3,5	18,5	64,9	1,8	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-106	2	11,4	3,2	16,7	66,8	1,9	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-106	3	11,1	3,5	16,3	67,1	2,1	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-106	4	12,0	3,6	17,8	64,9	1,7	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-106	5	11,5	3,7	15,0	67,7	2,0	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2.3	10GR1 3-106	6	11,0	3,6	14,3	69,0	2,1	Homoz Pos

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2. 3	10GR1 3-106	7	11,1	3,3	16,5	67,3	1,9	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2. 3	10GR1 3-106	8	11,0	3,4	17,2	66,6	1,8	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2. 3	10GR1 3-106	9	10,9	3,3	19,0	65,4	1,5	Homoz Pos
159-fad3c	PHP3 8557	AFS 6272.2. 3	10GR1 3-106	10	12,0	4,0	19,3	62,9	1,7	Homoz Pos

La Tabla 11 muestra que la semilla T2 de eventos que expresan el amiARN 159-fad3c tienen contenido de ácido alfa linolénico que varía de 0.8% a 4.4%. La semilla T2 de semilla de segregantes nulos tienen contenido alfa linolénico que varía de 7.5% a 13,7% que se encuentra en el intervalo típicamente observado para sojas de tipo salvaje donde el ácido alfa linolénico varía de 8.2% a 11.3% (ver la Tabla 12).

5 Tabla 12: Perfil de ácido graso para la semilla T2 analizada de la soja transformada con PHP41103, que contiene el amiARN 159-fatBF cultivado en el invernadero.

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.4	10GR1 3-226	1	11,2	3,6	21,3	55,1	8,8	Nulo
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.4	10GR1 3-226	2	11,3	3,4	19,6	57,0	8,6	Nulo
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.4	10GR1 3-237	1	11,8	3,8	18,3	56,1	10,0	Nulo
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.4	10GR1 3-237	2	12,6	4,2	23,7	51,6	7,9	Nulo
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.4	10GR1 3-222	1	2,0	2,4	28,5	60,2	6,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.4	10GR1 3-222	2	1,9	2,4	31,9	56,9	6,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.4	10GR1 3-222	3	2,1	2,8	30,3	57,9	6,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.4	10GR1 3-222	4	2,0	2,3	24,1	63,4	8,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.4	10GR1 3-222	5	2,0	2,5	24,6	63,4	7,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.4	10GR1 3-222	6	2,1	3,1	32,8	55,1	6,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.4	10GR1 3-222	7	2,0	2,0	28,1	60,9	7,0	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.4	10GR1 3-222	8	2,0	2,7	29,6	58,7	7,1	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.4	10GR1 3-222	9	2,1	2,6	29,5	57,9	7,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.4	10GR1 3-222	10	2,0	2,3	22,6	64,2	8,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.4	10GR1 3-229	1	1,9	2,2	25,9	62,5	7,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.4	10GR1 3-229	2	2,0	2,5	27,2	59,7	8,6	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.4	10GR1 3-229	3	1,8	2,1	23,1	65,0	7,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.4	10GR1 3-229	4	1,9	2,5	25,2	62,0	8,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.4	10GR1 3-229	5	2,0	2,0	24,1	63,4	8,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.4	10GR1 3-229	6	1,9	2,1	24,2	64,0	7,9	Homoz Pos

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.4	10GR1 3- 229	7	1,9	2,3	26,1	61,1	8,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.4	10GR1 3- 229	8	1,9	2,1	27,9	61,2	6,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.4	10GR1 3- 229	9	2,0	2,3	23,5	64,0	8,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.4	10GR1 3- 229	10	2,0	2,2	23,6	64,0	8,2	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 261	1	12,1	3,6	24,4	52,7	7,3	Nulo
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 261	2	11,1	3,3	23,1	54,8	7,8	Nulo
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 262	1	11,0	4,5	34,8	44,6	5,2	Nulo
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 262	2	11,7	4,0	27,1	50,2	7,0	Nulo
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 242	1	1,9	2,1	26,8	61,7	7,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 242	2	1,9	2,0	32,2	56,5	7,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 242	3	1,8	2,0	20,8	65,8	9,6	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 242	4	1,8	2,1	29,7	58,7	7,6	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 242	5	1,9	2,2	23,3	63,9	8,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 242	6	1,8	2,1	26,9	60,8	8,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 242	7	1,7	1,9	20,7	65,6	10,1	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 242	8	2,0	2,0	33,1	55,2	7,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 242	9	1,9	2,2	33,0	55,9	7,0	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 242	10	2,0	2,3	23,6	63,5	8,6	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 243	1	2,0	2,0	34,9	54,1	7,0	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 243	2	2,1	2,1	37,7	50,8	7,2	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 243	3	2,0	2,0	35,7	52,0	8,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 243	4	2,0	2,0	36,3	52,6	7,2	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 243	5	2,0	2,0	25,6	62,1	8,4	Homoz Pos

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 243	6	2,1	2,5	46,6	42,3	6,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 243	7	2,0	1,9	37,9	51,0	7,2	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 243	8	2,0	2,2	32,5	55,1	8,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 243	9	2,1	2,4	39,0	49,1	7,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 243	10	2,0	2,2	36,8	52,1	7,0	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 244	1	2,0	1,8	25,4	61,9	9,0	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 244	2	1,9	2,2	23,3	64,4	8,2	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 244	3	1,9	1,9	22,9	65,1	8,2	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 244	4	1,9	1,8	33,4	55,1	7,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 244	5	1,9	1,8	29,4	60,4	6,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 244	6	1,9	2,4	30,3	58,4	7,1	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 244	7	2,0	2,1	25,3	62,6	8,1	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 244	8	1,9	1,7	24,0	64,5	7,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 244	9	2,0	2,1	33,8	55,6	6,6	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 244	10	1,9	1,9	28,1	60,9	7,2	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 247	1	1,8	2,0	25,0	62,4	8,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 247	2	1,8	2,0	30,2	58,3	7,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 247	3	1,8	1,9	22,4	65,0	8,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 247	4	1,9	1,9	31,5	57,2	7,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 247	5	1,9	2,0	24,2	63,0	8,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 247	6	1,9	2,0	28,1	59,9	8,0	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 247	7	1,8	2,0	23,2	63,8	9,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 247	8	1,8	1,8	27,4	61,3	7,8	Homoz Pos

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 247	9	1,8	1,9	26,9	61,2	8,2	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 247	10	1,8	2,2	30,4	58,3	7,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 249	1	1,8	1,9	25,8	62,7	7,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 249	2	1,9	2,0	23,9	63,9	8,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 249	3	2,0	2,6	32,7	55,7	7,0	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 249	4	1,9	2,2	23,2	63,9	8,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 249	5	1,8	2,0	25,5	62,5	8,1	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 249	6	1,9	2,0	23,6	63,9	8,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 249	7	2,0	2,0	23,3	63,7	9,0	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 249	8	1,8	2,0	23,7	64,8	7,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 249	9	2,0	2,1	24,6	62,9	8,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 249	10	1,8	2,3	27,4	61,1	7,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 252	1	2,0	2,3	26,8	61,1	7,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 252	2	2,0	2,5	34,2	54,2	7,1	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 252	3	2,0	2,5	37,1	52,0	6,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 252	4	2,3	2,9	30,7	57,4	6,6	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 252	5	2,4	3,2	39,3	48,8	6,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 252	6	2,3	2,3	35,3	53,6	6,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 252	7	2,1	2,5	33,0	55,8	6,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 252	8	2,2	2,9	29,0	58,9	7,1	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 252	9	2,3	3,0	28,4	59,3	7,0	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 252	10	2,3	2,7	28,7	59,1	7,2	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 253	1	1,9	2,0	30,8	58,5	6,8	Homoz Pos

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 253	2	2,1	2,1	20,4	65,8	9,6	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 253	3	2,1	2,1	22,0	64,8	8,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 253	4	1,8	2,0	24,2	63,7	8,2	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 253	5	2,0	2,2	28,4	60,2	7,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 253	6	2,1	2,2	24,8	62,0	9,0	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 253	7	2,2	2,3	31,7	57,4	6,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 253	8	1,9	2,1	29,1	59,3	7,6	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 253	9	2,1	2,4	34,6	54,7	6,2	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 253	10	2,0	2,0	26,3	62,4	7,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 256	1	2,0	2,1	23,7	64,1	8,2	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 256	2	2,0	2,1	27,9	61,1	6,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 256	3	2,0	2,1	22,1	65,4	8,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 256	4	2,3	2,2	16,4	66,9	12,2	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 256	5	2,1	2,1	30,6	58,6	6,6	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 256	6	2,0	2,2	24,3	63,6	7,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 256	7	2,1	2,3	17,8	67,4	10,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 256	8	1,9	1,7	16,7	70,3	9,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 256	9	2,0	2,1	22,8	65,4	7,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 256	10	2,0	2,2	29,2	60,3	6,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 258	1	2,4	2,0	23,4	63,3	8,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 258	2	2,4	2,0	21,1	63,7	10,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 258	3	1,9	2,5	31,0	57,8	6,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 258	4	2,5	2,0	21,1	63,6	10,8	Homoz Pos

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 258	5	2,5	2,0	28,9	59,6	7,1	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 258	6	2,7	1,9	17,3	64,5	13,6	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 258	7	2,3	2,3	35,2	55,2	5,1	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 258	8	2,1	2,4	32,4	57,0	6,1	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 258	9	2,3	2,8	28,1	59,4	7,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 258	10	2,5	1,9	26,8	60,5	8,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 260	1	2,1	2,1	26,2	61,8	7,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 260	2	1,9	1,9	33,4	55,2	7,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 260	3	2,0	1,7	32,6	56,6	7,1	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 260	4	2,1	2,1	24,9	62,5	8,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 260	5	2,0	2,0	29,2	59,8	7,0	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 260	6	2,0	1,9	26,9	61,3	7,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 260	7	1,9	1,8	24,3	63,7	8,2	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 260	8	2,2	2,2	28,9	59,4	7,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 260	9	1,9	1,9	34,1	56,1	5,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 1.6	10GR1 3- 260	10	2,0	1,9	31,3	58,1	6,6	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 269	1	11,7	3,7	21,4	55,6	7,6	Nulo
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 269	2	11,9	4,0	23,2	54,6	6,3	Nulo
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 270	1	2,1	2,0	25,7	62,4	7,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 270	2	1,9	2,3	23,0	64,6	8,2	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 270	3	2,0	2,4	24,6	63,3	7,6	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 270	4	2,2	2,6	29,7	59,7	5,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 270	5	2,3	2,5	22,5	63,9	8,8	Homoz Pos

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 270	6	2,1	2,2	20,0	67,1	8,6	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 270	7	2,1	2,4	21,4	66,0	8,1	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 270	8	2,3	2,7	27,4	61,0	6,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 270	9	2,0	2,2	24,9	64,4	6,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 270	10	2,0	2,1	24,9	64,2	6,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 274	1	2,0	2,0	29,1	59,6	7,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 274	2	2,0	2,1	29,2	58,8	7,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 274	3	2,0	2,2	27,3	60,6	7,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 274	4	2,0	2,0	27,9	61,0	7,1	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 274	5	2,0	2,4	27,7	60,0	7,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 274	6	2,1	2,3	28,4	60,1	7,1	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 274	7	2,0	2,6	31,7	55,8	7,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 274	8	1,9	2,1	22,6	64,0	9,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 274	9	2,0	2,4	32,0	56,5	7,1	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 274	10	2,0	2,3	27,4	60,4	7,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 277	1	2,1	2,3	30,7	58,4	6,6	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 277	2	2,0	2,3	27,6	60,9	7,2	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 277	3	2,1	2,4	30,6	58,1	6,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 277	4	1,9	2,3	28,0	60,4	7,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 277	5	2,0	2,4	28,0	60,7	6,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 277	6	2,2	2,3	23,8	63,0	8,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 277	7	2,0	2,5	30,4	58,8	6,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 277	8	2,0	2,1	28,0	60,7	7,1	Homoz Pos

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 277	9	2,1	2,8	27,9	60,1	7,2	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 277	10	2,0	2,0	26,2	62,7	7,1	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 278	1	2,0	2,6	33,3	55,5	6,6	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 278	2	2,0	2,2	25,2	63,4	7,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 278	3	1,9	2,3	22,7	65,2	7,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 278	4	1,9	2,5	26,0	61,5	8,0	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 278	5	2,1	2,6	28,5	59,8	7,1	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 278	6	2,0	2,9	30,2	57,4	7,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 278	7	2,0	1,9	28,6	58,8	8,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 278	8	2,1	2,3	27,2	61,1	7,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 278	9	2,0	2,3	29,4	59,4	6,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 3.2	10GR1 3- 278	10	2,0	2,3	25,7	62,3	7,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 286	1	11,0	3,5	20,3	57,8	7,5	Nulo
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 286	2	10,8	3,5	18,3	59,1	8,3	Nulo
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 288	1	11,5	3,1	19,1	58,4	7,9	Nulo
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 288	2	11,0	3,2	24,6	53,6	7,6	Nulo
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 289	1	1,8	2,4	18,7	67,2	9,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 289	2	1,9	2,5	27,9	60,1	7,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 289	3	1,9	2,4	21,4	65,6	8,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 289	4	1,7	2,1	21,2	66,3	8,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 289	5	1,9	2,2	22,5	65,5	7,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 289	6	1,8	2,1	26,1	63,2	6,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 289	7	1,8	2,3	25,9	63,3	6,7	Homoz Pos

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 289	8	2,0	2,7	19,8	66,2	9,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 289	9	1,9	2,5	20,5	66,4	8,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 289	10	1,9	2,3	22,7	65,4	7,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 292	1	2,0	2,4	23,7	64,6	7,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 292	2	2,0	3,4	33,0	55,3	6,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 292	3	1,9	2,6	22,5	65,3	7,6	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 292	4	2,0	2,5	21,6	66,4	7,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 292	5	2,0	2,6	21,7	65,5	8,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 292	6	2,0	3,0	20,9	65,4	8,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 292	7	2,0	2,3	25,0	64,1	6,6	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 292	8	2,1	2,7	25,7	63,3	6,2	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 292	9	2,3	3,1	25,6	61,9	7,0	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 292	10	2,2	3,1	27,0	61,7	6,1	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 304	1	1,9	2,1	23,7	65,0	7,2	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 304	2	1,9	2,4	31,5	57,9	6,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 304	3	1,9	2,2	27,7	60,8	7,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 304	4	1,9	2,3	27,6	61,2	7,0	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 304	5	2,0	2,0	21,5	66,0	8,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 304	6	2,0	2,3	24,9	63,5	7,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 304	7	1,9	2,5	39,4	49,9	6,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 304	8	1,9	2,2	23,4	65,2	7,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 304	9	1,9	2,2	27,3	61,3	7,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.1	10GR1 3- 304	10	2,0	2,1	34,2	55,5	6,3	Homoz Pos

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 309	1	11,7	3,3	20,2	57,7	7,1	Nulo
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 309	2	10,6	3,5	24,3	54,0	7,6	Nulo
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 318	1	12,4	3,1	21,5	55,1	7,9	Nulo
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 318	2	12,8	3,4	21,5	54,0	8,3	Nulo
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 307	1	3,0	2,6	19,8	65,3	9,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 307	2	2,7	2,3	23,5	63,0	8,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 307	3	2,7	2,7	23,3	62,8	8,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 307	4	2,6	2,4	28,0	60,1	6,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 307	5	2,8	2,5	20,9	65,8	8,0	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 307	6	2,9	2,8	22,5	63,4	8,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 307	7	2,6	2,7	25,3	61,9	7,6	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 307	8	2,6	2,4	27,6	60,3	7,1	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 307	9	2,6	2,5	25,2	61,9	7,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 307	10	2,4	2,7	21,9	66,1	6,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 310	1	2,8	2,7	20,5	65,3	8,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 310	2	2,7	2,4	27,8	60,2	6,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 310	3	2,5	2,5	28,9	59,7	6,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 310	4	2,8	2,4	22,5	64,7	7,6	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 310	5	2,6	2,3	29,8	59,0	6,2	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 310	6	2,5	2,4	37,0	52,2	6,0	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 310	7	2,6	2,2	27,2	60,9	7,2	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 310	8	2,3	2,6	30,0	58,6	6,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 310	9	2,6	2,2	26,6	61,6	7,1	Homoz Pos

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 310	10	2,3	2,4	26,0	61,6	7,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 313	1	2,5	2,0	28,7	59,5	7,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 313	2	2,6	2,9	30,7	57,3	6,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 313	3	2,4	2,0	30,1	59,0	6,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 313	4	2,3	2,3	29,4	59,1	6,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 313	5	2,4	1,9	29,4	60,1	6,2	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 313	6	2,2	2,4	33,1	56,2	6,1	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 313	7	2,4	2,2	31,8	56,8	6,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 313	8	2,1	2,1	30,2	59,8	5,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 313	9	2,4	2,2	31,9	57,2	6,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 313	10	2,2	2,2	32,6	56,5	6,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 321	1	2,5	2,3	29,2	59,0	7,0	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 321	2	2,0	2,1	25,5	62,1	8,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 321	3	2,4	2,1	23,0	64,8	7,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 321	4	2,2	2,1	24,7	63,6	7,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 321	5	2,4	2,6	25,6	62,2	7,2	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 321	6	2,6	2,2	23,0	63,4	8,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 321	7	2,7	2,2	25,3	61,6	8,2	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 321	8	2,5	2,1	24,2	62,9	8,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 321	9	2,6	2,1	22,7	64,4	8,2	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 6.3	10GR1 3- 321	10	2,2	2,3	27,8	59,9	7,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 328	1	10,7	3,5	21,2	56,0	8,5	Nulo

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 328	2	10,1	4,0	24,3	54,4	7,2	Nulo
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 329	1	11,6	4,0	17,7	57,8	9,0	Nulo
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 329	2	11,5	3,9	17,2	57,9	9,6	Nulo
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 330	1	11,5	3,7	16,2	59,1	9,5	Nulo
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 330	2	11,8	3,7	15,9	59,1	9,5	Nulo
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 331	1	2,3	2,5	30,2	57,0	7,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 331	2	2,0	2,3	30,0	58,7	6,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 331	3	2,3	2,4	26,7	61,1	7,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 331	4	2,3	2,2	32,7	56,5	6,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 331	5	2,2	2,4	28,1	59,6	7,6	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 331	6	2,3	2,4	26,1	61,6	7,6	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 331	7	2,3	2,1	29,3	59,6	6,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 331	8	1,9	2,1	24,2	63,1	8,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 331	9	2,2	2,3	29,3	59,2	6,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 331	10	2,5	2,3	20,4	64,8	10,1	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 333	1	2,2	2,4	32,0	55,5	7,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 333	2	1,8	2,2	28,8	59,7	7,5	Homoz Pos

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 333	3	2,3	2,4	29,3	58,1	7,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 333	4	2,1	2,5	23,7	63,0	8,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 333	5	2,1	2,4	26,1	61,8	7,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 333	6	2,2	2,9	23,2	63,9	7,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 333	7	2,1	2,3	27,4	60,4	7,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 333	8	1,9	2,1	26,3	61,7	7,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 333	9	2,1	2,6	27,0	61,6	6,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 333	10	2,1	2,4	27,0	60,5	8,0	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 334	1	2,1	2,5	22,6	65,0	7,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 334	2	2,0	2,7	24,0	62,9	8,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 334	3	2,1	2,5	26,6	61,0	7,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 334	4	2,2	2,5	26,6	60,8	7,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 334	5	2,0	2,6	22,7	64,1	8,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 334	6	2,1	2,3	22,7	65,0	8,0	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 334	7	2,1	2,6	26,5	61,1	7,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 334	8	2,2	2,6	22,7	63,7	8,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 334	9	2,1	2,6	26,1	60,7	8,6	Homoz Pos

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 334	10	2,1	3,4	30,5	56,7	7,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 341	1	2,2	2,3	38,1	50,9	6,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 341	2	2,2	3,9	31,1	56,5	6,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 341	3	2,3	3,3	33,6	54,1	6,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 341	4	2,3	2,6	26,2	61,0	7,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 341	5	2,3	2,9	33,3	54,5	6,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 341	6	2,0	2,6	41,1	48,0	6,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 341	7	2,3	3,3	31,8	55,8	6,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 341	8	2,3	3,3	31,2	55,9	7,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 341	9	2,4	3,1	36,9	50,9	6,6	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.2	10GR1 3- 341	10	2,3	3,0	34,0	52,7	8,1	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 353	1	11,3	3,1	23,3	54,5	7,8	Nulo
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 353	2	10,8	3,3	19,8	57,7	8,4	Nulo
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 359	1	11,4	3,3	21,0	56,1	8,2	Nulo
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 359	2	12,0	3,5	18,0	57,1	9,4	Nulo
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 347	1	2,1	1,9	27,0	61,1	7,7	Homoz Pos

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 347	2	1,9	2,5	25,9	61,6	8,1	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 347	3	2,1	2,1	22,9	64,1	8,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 347	4	2,0	2,0	23,7	64,5	7,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 347	5	2,0	2,2	23,6	63,1	9,1	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 347	6	2,0	2,2	22,7	64,5	8,6	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 347	7	2,0	2,1	25,1	61,9	8,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 347	8	2,0	2,2	27,5	59,9	8,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 347	9	2,0	2,1	26,7	61,2	8,0	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 347	10	1,9	2,3	24,6	62,8	8,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 355	1	2,0	2,4	29,4	58,2	8,0	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 355	2	1,9	2,3	24,5	63,1	8,2	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 355	3	2,0	2,4	27,3	60,3	8,0	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 355	4	2,1	2,4	31,9	56,7	6,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 355	5	2,1	2,1	25,5	62,2	8,1	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 355	6	2,2	2,6	25,0	63,0	7,1	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 355	7	2,1	2,2	27,6	61,7	6,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 355	8	2,3	2,1	29,6	59,4	6,6	Homoz Pos

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 355	9	2,1	2,3	22,3	64,7	8,6	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 355	10	2,4	2,8	26,5	61,2	7,1	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 360	1	2,2	2,4	27,4	60,7	7,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 360	2	1,8	2,6	24,6	63,1	7,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 360	3	2,2	2,3	29,9	58,2	7,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 360	4	1,8	2,4	27,0	61,6	7,2	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 360	5	2,1	2,8	24,6	63,7	6,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 360	6	2,4	2,3	21,5	66,0	7,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 360	7	2,2	2,4	25,9	61,2	8,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 360	8	2,1	2,7	19,8	65,1	10,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 360	9	2,0	2,4	24,7	62,3	8,6	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 360	10	2,0	2,2	28,0	60,1	7,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 367	1	2,1	2,4	27,2	60,9	7,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 367	2	2,3	2,8	36,7	51,9	6,3	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 367	3	2,1	2,7	28,8	59,1	7,2	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 367	4	1,8	2,1	29,8	59,8	6,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 367	5	2,1	2,5	30,3	58,8	6,3	Homoz Pos

ES 2 635 115 T3

amiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 367	6	2,3	2,6	35,4	53,0	6,7	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 367	7	2,3	2,7	31,2	57,0	6,8	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 367	8	2,0	2,5	28,9	60,1	6,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 367	9	2,3	2,4	30,7	57,6	7,1	Homoz Pos
159-fatBF	PHP411 03	AFS 6671. 11.3	10GR1 3- 367	10	2,2	2,2	30,0	58,6	6,9	Homoz Pos
		Jack	10GR1 3-61	1	12,5	4,3	14,5	58,3	10,3	
			10GR1 3-61	2	12,6	3,9	14,8	58,5	10,1	
			10GR1 3-62	1	12,3	3,9	17,9	57,7	8,2	
			10GR1 3-62	2	12,1	3,9	15,8	59,0	9,2	
			10GR1 3- 111	1	11,8	4,0	13,9	60,5	9,7	
			10GR1 3- 111	2	12,0	3,7	12,7	60,4	11,3	
			10GR1 3- 112	1	12,3	3,9	15,7	59,2	8,8	
			10GR1 3- 112	2	12,0	3,8	15,4	59,4	9,4	

La Tabla 12 muestra que la semilla T2 de eventos que expresan el amiARN 159-fatBF tienen contenido de ácido palmítico que varía de 1.7% a 3.0%. La semilla T2 de la semilla de segregantes nulos tienen contenido de ácido palmítico que varía de 10.1% a 12.8% que se encuentra en el intervalo típicamente observado para semillas Jack donde el ácido palmítico varía de 8.2% a 12.6%.

Tabla 13: Perfil de ácido graso para la semilla T2 analizada de la soja transformada con PHP41784, que contiene los amiARN 159-fad2-1b, 159-fatBFy 159-fad3c, cultivados en el invernadero.

AmiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.1.1	10GR32-43	1	11,1	2,8	16,9	57,6	11,7	Nulo
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.1.1	10GR32-43	2	11,1	3,2	17,8	57,0	10,9	Nulo
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.1.1	10GR32-47	1	2,0	2,5	89,6	3,7	2,2	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.1.1	10GR32-47	2	2,1	2,8	88,9	3,6	2,6	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.1.1	10GR32-47	3	1,9	2,4	89,5	3,7	2,5	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.1.1	10GR32-47	4	2,0	2,5	88,6	3,7	3,1	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.1.1	10GR32-47	5	1,9	2,6	89,6	3,6	2,4	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.1.1	10GR32-47	6	2,0	2,6	89,7	3,5	2,2	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.1.1	10GR32-47	7	1,9	2,3	89,6	3,6	2,6	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.1.1	10GR32-47	8	2,0	2,7	88,4	3,9	2,9	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.1.1	10GR32-47	9	1,9	2,3	89,6	3,6	2,6	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.1.1	10GR32-47	10	2,1	2,6	87,9	4,8	2,7	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.1.1	10GR32-52	1	1,9	2,1	89,8	3,3	3,0	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.1.1	10GR32-52	2	2,2	2,6	85,9	2,5	6,8	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.1.1	10GR32-52	3	2,0	2,3	88,4	4,1	3,2	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.1.1	10GR32-52	4	1,9	2,9	87,1	4,9	3,1	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.1.1	10GR32-52	5	1,9	2,3	88,3	4,7	2,8	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.1.1	10GR32-52	6	2,1	2,4	88,3	4,4	2,9	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.1.1	10GR32-52	7	2,0	2,2	88,5	3,7	3,6	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.1.1	10GR32-52	8	1,9	1,9	88,2	4,8	3,1	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.1.1	10GR32-52	9	1,8	2,4	89,4	3,8	2,5	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.1.1	10GR32-52	10	2,0	2,7	86,7	4,7	4,0	Homoz Pos

AmiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-62	1	10,8	3,3	18,3	56,5	11,0	Nulo
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-62	2	11,3	3,5	15,3	58,0	11,9	Nulo
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-71	1	12,2	3,1	20,5	55,0	9,1	Nulo
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-71	2	13,1	3,2	14,6	57,6	11,5	Nulo
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-64	1	2,9	2,1	87,9	5,3	1,8	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-64	2	2,7	2,1	88,3	5,2	1,7	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-64	3	2,8	2,1	89,3	4,4	1,4	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-64	4	6,7	2,5	83,8	5,5	1,5	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-64	5	2,7	2,0	89,6	4,4	1,4	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-64	6	3,0	2,4	88,5	4,6	1,4	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-64	7	1,8	1,9	90,8	4,2	1,3	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-64	8	3,1	2,6	87,2	5,3	1,7	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-64	9	2,9	2,2	88,3	4,9	1,7	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-64	10	2,8	2,2	89,3	4,4	1,4	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-66	1	6,5	2,5	83,1	6,3	1,6	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-66	2	2,0	2,2	90,3	4,2	1,3	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-66	3	4,9	2,5	86,6	4,5	1,4	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-66	4	2,6	2,3	89,7	4,2	1,3	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-66	5	2,9	2,2	89,1	4,7	1,1	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-66	6	2,6	1,9	89,6	4,4	1,5	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-66	7	2,6	2,0	89,5	4,6	1,3	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-66	8	1,9	2,4	90,0	4,3	1,4	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-66	9	2,8	2,1	90,2	3,7	1,2	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-66	10	6,0	2,3	85,2	5,1	1,4	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-67	1	1,9	2,6	90,2	4,0	1,3	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-67	2	1,8	2,2	90,8	3,8	1,4	Homoz Pos

AmiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-67	3	1,9	2,0	90,4	4,2	1,5	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-67	4	1,8	2,0	90,2	4,6	1,5	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-67	5	1,8	2,1	90,5	4,2	1,5	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-67	6	1,9	2,8	89,9	3,9	1,5	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-67	7	1,8	1,9	89,4	5,0	2,0	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-67	8	1,9	2,3	90,6	3,8	1,5	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-67	9	1,8	1,8	90,7	4,3	1,5	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-67	10	1,8	2,1	90,1	4,5	1,5	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-77	1	3,6	2,7	86,6	5,6	1,5	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-77	2	2,0	2,1	87,3	6,8	1,8	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-77	3	2,7	2,4	88,9	4,7	1,4	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-77	4	3,3	2,6	89,1	3,7	1,3	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-77	5	3,6	2,6	87,9	4,3	1,6	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-77	6	2,3	2,8	89,9	3,8	1,2	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-77	7	5,8	2,7	86,6	3,8	1,2	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-77	8	2,9	2,1	89,9	3,7	1,4	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-77	9	3,4	2,7	87,6	4,9	1,4	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.2. 1	10GR32-77	10	7,1	2,1	84,7	4,6	1,5	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-82	1	11,5	3,6	19,1	55,1	10,7	Nulo
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-82	2	11,6	3,6	18,6	55,9	10,3	Nulo
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-84	1	11,6	3,5	21,2	54,3	9,5	Nulo
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-84	2	11,7	3,8	18,4	56,5	9,6	Nulo
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-91	1	1,9	2,0	90,2	4,0	2,0	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-91	2	2,0	2,2	90,0	3,5	2,3	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-91	3	1,8	2,5	89,5	3,4	2,8	Homoz Pos

AmiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-91	4	1,9	2,5	89,4	3,6	2,5	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-91	5	1,8	2,3	90,0	3,4	2,5	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-91	6	1,9	2,3	90,1	3,3	2,4	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-91	7	1,9	2,4	90,2	3,3	2,3	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-91	8	2,0	2,5	89,9	3,4	2,2	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-91	9	1,9	2,3	88,3	4,4	3,0	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-91	10	1,8	2,1	90,6	3,6	1,9	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-93	1	2,1	2,8	87,8	4,5	2,8	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-93	2	2,2	2,9	87,6	4,5	2,8	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-93	3	2,2	2,7	87,3	4,6	3,2	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-93	4	2,3	2,9	86,9	4,8	3,1	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-93	5	2,3	3,0	86,2	5,0	3,5	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-93	6	2,3	3,2	84,5	6,2	3,8	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-93	7	2,1	2,8	85,2	6,0	3,8	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-93	8	2,2	2,9	86,3	5,3	3,2	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-93	9	2,2	2,9	86,4	4,9	3,5	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-93	10	2,2	2,9	86,7	5,0	3,2	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-96	1	1,9	2,4	90,0	3,3	2,4	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-96	2	2,0	2,7	89,0	3,8	2,5	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-96	3	2,1	2,5	90,0	3,3	2,1	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-96	4	2,0	2,8	89,1	3,4	2,7	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-96	5	2,0	2,6	89,6	3,5	2,3	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-96	6	2,1	2,8	89,4	3,5	2,2	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-96	7	1,8	2,4	90,6	3,1	2,0	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-96	8	1,9	2,2	90,7	3,4	1,9	Homoz Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-96	9	1,9	2,4	90,1	3,5	2,1	Homoz Pos

AmiARN	Construcción	Evento	Semilla T2 analizada	N.º de semill.	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Comentario de semilla T2
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-96	10	1,9	2,3	90,0	3,6	2,3	Homozyg Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-99	1	2,0	2,9	87,3	4,9	2,8	Homozyg Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-99	2	2,0	2,4	88,5	4,8	2,3	Homozyg Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-99	3	2,0	3,1	87,6	4,5	2,8	Homozyg Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-99	4	2,1	3,1	87,5	4,7	2,5	Homozyg Pos
159-fad2-1b/159-fatBf/1 59-fad3c	PHP417 84A	AFS 6784.3. 2	10GR32-99	5	2,1	2,7	87,3	5,3	2,6	Homozyg Pos
		93B86	10GR32-102	1	11,8	3,8	18,4	56,1	10,0	
		93B86	10GR32-102	2	10,9	3,5	19,9	55,6	10,0	
		93B86	10GR32-104	1	12,1	4,5	17,4	54,9	11,1	
		93B86	10GR32-104	2	11,8	3,9	19,2	55,0	10,2	

La Tabla 13 muestra que la semilla T2 de eventos que expresan los amiARN 159-fad2-1 b, 159-fatBF y 159-fad3c tienen contenido de ácido palmítico que varía de 1.8% a 7.1%, contenido de ácido oleico que varía de 83.1% a 90.8% y contenido de ácido alfa linolénico que varía de 1.1% a 6.8%. La semilla T2 de la semilla segregante nula tiene contenido de ácido palmítico que varía de 10.8% a 13.1%, contenido de ácido oleico que varía de 14.6% a 21.2% y contenido de ácido alfa linolénico que varía de 9.1% a 11.9%. La variedad elite que se transformó (93B86) tiene contenido de ácido palmítico que varía de 10.9% a 12.1%, contenido de ácido oleico que varía de 16.3% a 19.9% y contenido de ácido alfa linolénico que varía de 10.0% a 11.5%.

Análisis de perfiles de ácidos grasos de semillas eventos que expresan amiARN cultivados en el campo en Iowa

Representantes de semillas para cada experimento de diferentes eventos se plantaron en múltiples repeticiones en 4 ubicaciones diferentes en Iowa (Johnston, Stuart, Griswold y Washington) junto con segregantes nulos adecuados y controles Jack o 93B86. Típicamente, las repeticiones se plantaron en filas que tenían de 30 semillas (filas cortas) hasta alrededor de 220 semillas para filas más largas.

Las semillas se cultivaron y dos alícuotas a granel de 5 semillas de cada fila se aplastaron, los lípidos se derivaron con TMSH y FAME se analizaron mediante GC tal como se describe *inter alia*. Los dos perfiles de ácidos grasos a granel de 5 semillas resultantes luego se promediaron para obtener el perfil de ácidos grasos promedio para semillas de esa fila.

Luego se promediaron los perfiles de ácidos grasos a granel de 5 semillas promedio de todas las filas para un evento dado dentro de un experimento para obtener un perfil de ácidos grasos promedio general para semillas de ese evento cuando se cultivan en el campo. Esto también se realizó para segregantes nulos dentro de un evento y con los controles Jack y 93B86.

Los perfiles de ácidos grasos promedio para semillas cultivadas en el campo analizadas de la soja transformada con PHP32510, que contiene el amiARN 369b-fad2-1 b o PHP32511, que contiene el amiARN 159-fad2-1 b o PHP32843, que contiene los amiARN 369b-fad2-1 b y 159-fad2-2 o PHP33705, que contiene los amiARN 396-fad2-1 b y 396b-sad3 o PHP38557, que contiene el amiARN 159-fad3c o PHP41103, que contiene el amiARN 159-fatBF o PHP41784, que contiene los amiARN 159-fad2-1 b, 159-fatBF y 159-fad3c se muestran en la Tabla 14.

Tabla 14: Perfiles de ácidos grasos promedio para semillas cultivadas en el campo en cuatro ubicaciones en Iowa.

Ami-RNA	Construcción	Evento	Prom. 16:0	Prom. 18:0	Prom. 18:1	Prom. 18:2	Prom. 18:3	Comentario de semilla T2
396b-fad2-1b	PHP32510 A	AFS 5260.3.3	9,1	4,3	23,4	55,5	7,6	Nulo
396b-fad2-1b	PHP32510 A	AFS 5260.3.11	9,1	4,4	31,0	48,5	6,9	Nulo
396b-fad2-1b	PHP32510 A	AFS 5260.2.3	6,0	3,7	80,8	4,6	4,7	Homoz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510 A	AFS 5260.3.6	6,2	3,6	80,6	5,0	4,5	Homoz Pos
396b-fad2-1b	PHP32510 A	AFS 5260.4.5	6,1	3,9	82,0	3,5	4,4	Homoz Pos
159-fad2-1b	PHP32511 A	AFS 5292.1.4	6,5	4,0	77,1	6,8	5,4	Homoz Pos
159-fad2-1b	PHP32511 A	AFS 5292.5.8	6,1	4,0	81,5	3,8	4,4	Homoz Pos
159-fad2-1b	PHP32511 A	AFS 5292.6.5	7,0	4,2	71,2	11,7	5,9	Homoz Pos
159-fad2-1b	PHP32511 A	AFS 5292.7.2	6,3	3,8	75,7	8,4	5,6	Homoz Pos
159-fad2-1b	PHP32511 A	AFS 5292.7.6	6,1	4,1	81,3	3,9	4,6	Homoz Pos

ES 2 635 115 T3

Ami-RNA	Construcción	Evento	Prom. 16:0	Prom. 18:0	Prom. 18:1	Prom. 18:2	Prom. 18:3	Comentario de semilla T2
396b-fad2-1b/159 -fad2-2	PHP32843 A	EAFS 5396.2.2	5,6	3,5	88,8	0,5	1,5	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159 -fad2-2	PHP32843 A	EAFS 5396.2.3	5,5	3,5	88,7	0,6	1,6	Homoz Pos
396b-fad2-1b/159 -fad2-2	PHP32843 A	EAFS 5396.3.8	5,7	3,4	87,8	1,0	2,0	Homoz Pos
396-fad2-1b/396 b-sad3	PHP33705 A	AFS 5489.3.2	9,1	4,4	22,7	55,7	7,9	Nulo
396-fad2-1b/396 b-sad3	PHP33705 A	AFS 5489.3.4	9,2	4,1	24,2	56,0	6,5	Nulo
396-fad2-1b/396 b-sad3	PHP33705 A	AFS 5489.4.1	9,4	4,3	22,4	56,0	7,9	Nulo
396-fad2-1b/396 b-sad3	PHP33705 A	AFS 5489.3.2	6,3	11,4	61,6	14,7	5,9	Homoz Pos
396-fad2-1b/396 b-sad3	PHP33705 A	AFS 5489.3.4	6,2	13,1	63,2	11,8	5,6	Homoz Pos
396-fad2-1b/396 b-sad3	PHP33705 A	AFS 5489.4.1	5,5	14,2	65,7	8,4	6,1	Homoz Pos
159-fad3c	PHP38557 A	AFS 6272.1.4	8,3	4,3	23,8	55,9	7,6	Nulo
159-fad3c	PHP38557 A	AFS 6272.2.1	9,3	4,4	24,3	54,5	7,4	Nulo
159-fad3c	PHP38557 A	AFS 6272.2.3	9,2	4,3	23,1	55,8	7,5	Nulo
159-fad3c	PHP38557 A	AFS 6272.1.4	9,2	4,1	25,4	56,3	4,8	Homoz Pos
159-fad3c	PHP38557 A	AFS 6272.2.1	9,2	4,2	26,9	57,6	2,1	Homoz Pos
159-fad3c	PHP38557 A	AFS 6272.2.3	9,4	4,1	24,6	57,4	4,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP41103 A	AFS 6671.1.4	9,5	3,8	20,6	57,0	9,1	Nulo
159-fatBF	PHP41103 A	AFS 6671.1.6	9,9	4,0	21,4	56,5	8,1	Nulo
159-fatBF	PHP41103 A	AFS 6671.3.2	10,4	3,9	19,9	57,3	8,6	Nulo
159-fatBF	PHP41103 A	AFS 6671.6.1	10,0	4,0	21,0	57,1	7,8	Nulo
159-fatBF	PHP41103 A	AFS 6671.6.3	10,6	4,1	21,0	56,3	8,0	Nulo
159-fatBF	PHP41103 A	AFS 6671.11.2	10,0	3,9	20,3	57,3	8,3	Nulo
159-fatBF	PHP41103 A	AFS 6671.11.3	10,2	3,8	20,2	57,1	8,7	Nulo

Ami-RNA	Construcción	Evento	Prom. 16:0	Prom. 18:0	Prom. 18:1	Prom. 18:2	Prom. 18:3	Comentario de semilla T2
159-fatBF	PHP41103 A	AFS 6671.1.4	2,2	3,1	23,7	62,4	8,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP41103 A	AFS 6671.1.6	1,9	3,1	23,7	62,7	8,6	Homoz Pos
159-fatBF	PHP41103 A	AFS 6671.3.2	3,3	3,9	24,8	59,6	8,4	Homoz Pos
159-fatBF	PHP41103 A	AFS 6671.6.1	1,9	3,2	23,9	63,3	7,6	Homoz Pos
159-fatBF	PHP41103 A	AFS 6671.6.3	2,5	3,3	23,4	62,9	7,9	Homoz Pos
159-fatBF	PHP41103 A	AFS 6671.11.2	2,1	3,3	22,5	63,6	8,5	Homoz Pos
159-fatBF	PHP41103 A	AFS 6671.11.3	2,2	3,1	23,9	62,1	8,6	Homoz Pos
159-fad2- 1b/159 fatBf/1 59-fad3c	PHP41784 A	AFS 6784.1.1	9,9	3,5	18,9	57,7	9,8	Nulo
159-fad2- 1b/159 fatBf/1 59-fad3c	PHP41784 A	AFS 6784.2.1	12,0	3,5	18,1	57,3	9,0	Nulo
159-fad2- 1b/159 fatBf/1 59-fad3c	PHP41784 A	AFS 6784.3.2	10,2	3,6	19,5	57,9	8,8	Nulo
159-fad2- 1b/159 fatBf/1 59-fad3c	PHP41784 A	AFS 6784.1.1	2,0	2,7	82,9	9,5	2,7	Homoz Pos
159-fad2- 1b/159 fatBf/1 59-fad3c	PHP41784 A	AFS 6784.2.1	2,8	2,6	83,1	9,8	1,5	Homoz Pos
159-fad2- 1b/159 fatBf/1 59-fad3c	PHP41784 A	AFS 6784.3.2	1,9	2,7	83,6	9,5	2,2	Homoz Pos
	Promedio Jack		9,5	4,1	21,6	56,9	7,9	
	93B86 promedio		9,9	3,8	20,5	57,1	8,6	

La Tabla 14 muestra que los perfiles de ácidos grasos en semillas que expresan varios amiARN se asemejan a aquellos obtenidos para semillas cultivadas en invernadero y son estables cuando se cultivan en el campo.

Ejemplo 6

Generación de precursores de amiARN para silenciar genes biosintéticos de ácidos grasos de Arabidopsis y Brassica

Las secuencias de la familia génica clave dirigidas para el silenciamiento en la Arabidopsis thaliana y Brassica napus son las familias de 2 genes desaturasa de ácidos grasos, también conocida como delta-12 desaturasa u omega-6 desaturasa, la familia génica de la desaturasa 3 de ácidos grasos (fad3) [Yadav,N.S., Wierzbicki,A., Aegerter,M., Caster,C.S., Perez-Grau,L., Kinney,A.J., Hitz,W.D., Booth,J.R. Jr., Schweiger,B., Stecca,K.L., Allen,S.M., Blackwell,M., Reiter,R.S., Carlson,T.J., Russell,S.H., Feldmann,K.A., Pierce,J. y Browse,J. Cloning of higher plant omega-3 fatty acid desaturases Plant Physiol. 103 (2), 467-476 (1993)] y la familia génica de la elongasa de ácidos

grasos (fael) (número de publicación US 2007/0204370 A1, presentada el 24 de noviembre de 2004)). Una lista de genes biosintéticos de ácido graso dirigidos para silenciamiento mediante amiARN, junto con el identificador génico de la secuencia de genomas de Arabidopsis o Brassica correspondiente, nt SEQ ID NO y aa SEQ ID NO se muestran en la Tabla 15.

- 5 En la Tabla 15, el identificador génico utilizado para los genes de Brassica napus correspondientes es el número de registro NCBI para la secuencia de codificación del gen respectivo.

Tabla 15: Secuencias génicas biosintéticas de ácidos grasos de Arabidopsis thaliana y Brassica napus dirigidas para silenciamiento

<u>Organismo dirigido</u>	<u>Familia génica</u>	<u>Gen</u>	<u>nt SEQ ID NO</u>	<u>aa SEQ ID NO</u>
Arabidopsis	Fad2	At3g12120	44	45
	Fad3	At2g29980	46	47
	Fael	At4g34520	48	49
Brassica	Fad2	FJ907397	50	51
		FJ907398	52	53
		FJ907399	54	55
		FJ907400	56	57
		FJ907401	58	59
		AF124360	174	175
	Fad3	L01418	60	61
		AY599884	62	63
		L22962	64	65
	Fael	AF274750	66	67
		AY888043	68	69
		AF009563	70	71
		GU325719	72	73
		AF490462	74	75
		AF490459	76	77
		BNU50771	78	79

Diseño de microARN artificiales y secuencias STAR correspondientes

- 10 Los amiARN y secuencias STAR correspondientes que se emparejan con los amiARN se diseñaron de las secuencias Arabidopsis y Brassica tal como se describe en el Ejemplo 1 y están enumeradas en la Tabla 16 junto con sus SEQ ID NO.

Tabla 16: amiARN y secuencias STAR correspondientes que se dirigen a secuencias biosintéticas de ácidos grasos de Arabidopsis y Brassica.

<u>amiARN</u>	<u>amiARN SEQ ID NO:</u>	<u>Precursor 159 de la secuencia STAR SEQ ID NO:</u>	<u>Precursor 396 de la secuencia STAR SEQ ID NO:</u>
fad2a	80	81	82
fad2b	83	84	85
fad2c	86	87	88
fad3a	89	90	91
fad3b	92	93	94
faela	95	96	97

<u>amiARN</u>	<u>amiARN SEQ ID NO:</u>	<u>Precursor 159 de la secuencia STAR SEQ ID NO:</u>	<u>Precursor 396 de la secuencia STAR SEQ ID NO:</u>
faelb	98	99	100
faelc	101	102	103

Generación de vectores de expresión listos de In-Fusion™

Los precursores GM-159 y GM-396b de microARN (descritos en el Ejemplo 1) se alteraron para incluir sitios Pme I que flanquean inmediatamente las secuencias star y microARN para formar los precursores de microARN listos de In-Fusion™. Estas secuencias se clonaron en el sitio Not I de KS332 para formar los plásmidos GM-159-KS332 y GM-396b-KS332 del microARN listo de In-Fusion™ (SEQ ID NO: 104 y SEQ ID NO: 105, respectivamente).

Para quitar el casete DSred GM-396b-KS332 (SEQ ID NO: 105) se digirió con BamHI y el fragmento que contiene el precursor GM-396b se volvió a ligar para producir pKR2007 (SEQ ID NO: 106).

El plásmido GM-159-KS332 (SEQ ID NO: 104) se digirió con HindIII y el fragmento que contiene el precursor GM-159 se clonó en el fragmento HindIII de pKR2007 (SEQ ID NO: 106), que contiene ADN de estructura principal de vector, para producir pKR2009 (SEQ ID NO: 107).

En todos estos vectores de expresión, el casete de expresión (promotor de beta-conglicinina:precursor de microARN listo de In-Fusion™:terminador de faseolina) está flanqueado por sitios Ascl.

Generación de precursores de amiARN para silenciar genes biosintéticos de ácidos grasos de Arabidopsis y Brassica

Cuando se sintetizaron precursores de amiARN en la estructura principal de GM-159, el precursor GM-159 de microARN (Ejemplo 1) se utilizó como un modelo de PCR. Se diseñaron pares de oligonucleótidos para cada secuencia de amiARN/STAR para ser amplificada utilizando cebadores de oligonucleótidos 5' y 3' que son idénticos a la región precursora GM-159 en el extremo 3' del oligonucleótido y que contiene ya sea el amiARN de 21 pb o la secuencia STAR de interés (tal como se enumera en la Tabla 16) y una región homóloga a cualquier lado del sitio Pme I de pKR2009 (SEQ ID NO: 107) en el extremo 5' del oligonucleótido. Los cebadores de oligonucleótidos se diseñaron de acuerdo con el protocolo proporcionado por Clontech y no dejan ninguna huella de los sitios Pme I luego de la reacción de recombinación de In-Fusion™.

Un enfoque similar se utilizó para diseñar oligonucleótidos para precursores de amiARN en la estructura principal de GM-396b excepto que se utiliza GM-396b de microARN como modelo PCR y la región 5' del oligonucleótido es homólogo a cualquier lado del sitio Pme I de pKR2007 (SEQ ID NO: 106).

El ADN amplificado correspondiente a cada conjunto de cebadores se recombinó en pKR2007 o pKR2009, previamente digerido con Pme I para linealizar el vector, utilizando los protocolos del fabricante proporcionados con el kit In-Fusion™. De esta manera, se produjeron los vectores de expresión para cada una de las secuencias amiARN/STAR enumeradas en la Tabla 16.

Estos plásmidos luego se digirieron con Ascl y el fragmento que contiene el casete de expresión amiARN se subclonó en el sitio Ascl de pKR92, que se describió previamente en WO2007/06110109 (publicada el 31 de mayo de 2007). Las SEQ ID NO de las secuencias para los amiARN precursores resultantes, así como los plásmidos resultantes que contienen los precursores 396b o 159 de amiARN adecuados para silenciar los genes fad2, fad3 y fael están enumerados en la Tabla 17.

Tabla 17: amiARN precursores y construcciones de expresión de amiARN para secuencias génicas biosintéticas de ácido graso de Arabidopsis y Brassica dirigidas para silenciamiento

<u>Familia génica</u>	<u>Precursor de amiARN</u>	<u>Precursor de amiARN SEQ ID NO</u>	<u>Nombre de plásmido</u>	<u>Plásmido SEQ ID NO</u>
fad2	159-Atfad2a	136	pKR2032	108
	159-Atfad2b	137	pKR2033	109
	159-Atfad2c	138	pKR2034	110
	396b-Atfad2a	139	pKR2037	111
	396b-Atfad2b	140	pKR2038	112
	396b-Atfad2c	141	pKR2039	113
fad3	159-Atfad3a	142	pKR2035	114

<u>Familia génica</u>	<u>Precursor de amiARN</u>	<u>Precursor de amiARN SEQ ID NO</u>	<u>Nombre de plásmido</u>	<u>Plásmido SEQ ID NO</u>
	159-Atfad3b	143	pKR2036	115
	396b-Atfad3a	144	pKR2040	116
	396b-Atfad3b	145	pKR2041	117
fael	159-Atfaela	146	pKR2076	118
	159-Atfaelb	147	pKR2077	119
	159-Atfaelc	148	pKR2078	120
	396b-Atfaela	149	pKR2079	121
	396b-Atfaelb	150	pKR2081	122
	396b-Atfaelc	151	pKR2080	123

De la Tabla 17, el precursor de amiARN 159-Atfad2a (SEQ ID NO: 136) tiene 958 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN ATFAD2A (SEQ ID NO: 80) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star 159-ATFAD2A (SEQ ID NO: 81). Las secuencias precursoras de miARN genómico 159 a 396b se describieron previamente en US20090155910A1 (WO 2009/079532) y sus secuencias están establecidas en SEQ ID NO: 152 y la SEQ ID NO: 153, respectivamente.

De la Tabla 17, el precursor de amiARN 159-Atfad2b (SEQ ID NO: 137) tiene 958 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN ATFAD2B (SEQ ID NO: 83) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star 159-ATFAD2B (SEQ ID NO: 84).

De la Tabla 17, el precursor de amiARN 159-Atfad2c (SEQ ID NO: 138) tiene 958 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN ATFAD2c (SEQ ID NO: 86) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star 159-ATFAD2c (SEQ ID NO: 87).

De la Tabla 17, el precursor de amiARN 396b-Atfad2a (SEQ ID NO: 139) tiene 574 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 153 donde los nucleótidos 196 a 216 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por amiARN ATFAD2A (SEQ ID NO: 80) y donde los nucleótidos 262 a 282 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por la secuencia Star 396b-ATFAD2A (SEQ ID NO: 82).

De la Tabla 17, el precursor de amiARN 396b-Atfad2b (SEQ ID NO: 140) tiene 574 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 153 donde los nucleótidos 196 a 216 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por amiARN ATFAD2B (SEQ ID NO: 83) y donde los nucleótidos 262 a 282 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por la secuencia Star 396b-ATFAD2B (SEQ ID NO: 85).

De la Tabla 17, el precursor de amiARN 396b-Atfad2c (SEQ ID NO: 141) tiene 574 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 153 donde los nucleótidos 196 a 216 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por amiARN ATFAD2c (SEQ ID NO: 86) y donde los nucleótidos 262 a 282 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por la secuencia Star 396b-ATFAD2c (SEQ ID NO: 88).

De la Tabla 17, el precursor de amiARN 159-Atfad3a (SEQ ID NO: 142) tiene 958 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN ATFAD3A (SEQ ID NO: 89) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star 159-ATFAD2A (SEQ ID NO: 90).

De la Tabla 17, el precursor de amiARN 159-Atfad3b (SEQ ID NO: 143) tiene 958 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN ATFAD3B (SEQ ID NO: 92) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star 159-ATFAD3B (SEQ ID NO: 93).

NO: 93).

De la Tabla 17, el precursor de amiARN 396b-Atfad3a (SEQ ID NO: 144) tiene 574 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 153 donde los nucleótidos 196 a 216 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por amiARN ATFAD3A (SEQ ID NO: 89) y donde los nucleótidos 262 a 282 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por la secuencia Star 396b-ATFAD3A (SEQ ID NO: 91).

De la Tabla 17, el precursor de amiARN 396b-Atfad2b (SEQ ID NO: 145) tiene 574 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 153 donde los nucleótidos 196 a 216 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por amiARN ATFAD3B (SEQ ID NO: 92) y donde los nucleótidos 262 a 282 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por la secuencia Star 396b-ATFAD3B (SEQ ID NO: 94).

De la Tabla 17, el precursor de amiARN 159-Atfaela (SEQ ID NO: 146) tiene 958 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN ATFAEIA (SEQ ID NO: 95) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star 159-ATFAEIA (SEQ ID NO: 96).

De la Tabla 17, el precursor de amiARN 159-Atfaelb (SEQ ID NO: 147) tiene 958 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN ATFAEIB (SEQ ID NO: 98) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star 159-ATFAEIB (SEQ ID NO: 99).

De la Tabla 17, el precursor de amiARN 159-Atfaalc (SEQ ID NO: 148) tiene 958 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN ATFAElc (SEQ ID NO: 101) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star 159-ATFAElc (SEQ ID NO: 102).

De la Tabla 17, el precursor de amiARN 396b-Atfaela (SEQ ID NO: 149) tiene 574 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 153 donde los nucleótidos 196 a 216 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por amiARN ATFAEIA (SEQ ID NO: 95) y donde los nucleótidos 262 a 282 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por la secuencia Star 396b-ATFAEIA (SEQ ID NO: 97).

De la Tabla 17, el precursor de amiARN 396b-Atfaelb (SEQ ID NO: 150) tiene 574 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 153 donde los nucleótidos 196 a 216 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por amiARN ATFAEIB (SEQ ID NO: 98) y donde los nucleótidos 262 a 282 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por la secuencia Star 396b-ATFAEIB (SEQ ID NO: 100).

De la Tabla 17, el precursor de amiARN 396b-Atfaelc (SEQ ID NO: 151) tiene 574 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 153 donde los nucleótidos 196 a 216 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por amiARN ATFAElc (SEQ ID NO: 101) y donde los nucleótidos 262 a 282 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por la secuencia Star 396b-ATFAElc (SEQ ID NO: 103).

Ejemplo 7

Análisis fenotípico de semilla de Arabidopsis que expresa amiARN para silenciar genes biosintéticos de ácidos grasos

Transformación de plantas Arabidopsis

Los plásmidos enumerados en la Tabla 17 (Ejemplo 6) se introdujeron en *Agrobacterium tumefaciens* NTL4 (Luo et al, Molecular Plant-Microbe Interactions (2001) 14(1):98-103) mediante electroporación. Brevemente, se mezcló 1 µg de ADN plásmido se mezcló con 100 µL de células electro-competentes en hielo. La suspensión celular se transfirió a una cubeta de electroporación de 100 µL (espacio de 1 mm de ancho) y se electroporó utilizando un electroporador BIORAD configurado a 1 kV, 400Ω y 25 µF. Las células se transfirieron a 1 mL de medio LB y se incubaron durante 2 horas a 30 °C. Las células se colocaron en placas sobre medio LB que contenían 50 µg/mL de kanamicina. Las placas se incubaron a 30 °C durante 60 h. Se inocularon cultivos de Agrobacterium recombinante (500 mL de LB, 50 µg/mL de kanamicina) de colonias individuales de células de agrobacterium transformadas y cultivadas a 30 °C durante 60 h. Las células se cultivaron mediante centrifugación (5000 xg, 10 min) y se resuspendieron en 1 L de sacarosa al 5% (P/V) que contenía Silwet al 0.05% (V/V). Las plantas Arabidopsis se cultivaron en tierra a una densidad de 30 plantas por 100 cm² plantadas en macetas con mezcla de tierra METRO-MIX® 360 durante 4 semanas (22 °C, 16 h luz/8 h oscuridad, 100 µE m⁻²s⁻¹).

Las plantas se sumergieron repetidamente en la suspensión de Agrobacterium que alberga los vectores de

expresión enumerados en la Tabla 17 y se mantuvieron en un entorno oscuro de humedad elevada durante 24 horas. Luego de ser sumergidas, las plantas se cultivaron durante tres a cuatro semanas en condiciones de crecimiento vegetal estándar descritas anteriormente y el material vegetal se cosechó y secó durante una semana a temperaturas ambiente en bolsas de papel. Las semillas se cosecharon utilizando un tamiz de malla de metal de 0.425 mm.

Semillas de *Arabidopsis* limpias (2 gramos, que corresponden a alrededor de 100.000 semillas) se esterilizaron mediante lavados en 45 mL de etanol al 80%, TRITON® X-100 al 0.01%, seguido por 45 mL de lejía de uso doméstico al 30% (V/V) en agua, TRITON® X-100 al 0.01% y finalmente mediante enjuague repetido en agua estéril. Alícuotas de 20.000 semillas se transfirieron a placas cuadradas (20 x 20 cm) que contienen 150 mL de medio de crecimiento vegetal estéril que comprende sales MS 0.5 x, sorbitol al 0.53% (P/V), MES/KOH 0.05 (pH 5.8), TIMENTIN® 200 µg/mL, y 50 µg/mL de kanamicina solidificada con 10 g/L agar. La dispersión homogénea de la semilla en el medio se facilitó al mezclar la suspensión de semilla acuosa con un volumen igual de medio de crecimiento de planta disuelto. Las placas se incubaron en condiciones de crecimiento estándar durante diez días. Las plántulas resistentes a la kanamicina se transfirieron a medio de crecimiento vegetal sin agente selectivo y se cultivaron durante una semana antes de ser transferidas a la tierra. Las plantas T1 se cultivaron hasta alcanzar la madurez junto con plantas de control de tipo salvaje y las semillas T2 se cosecharon.

Análisis de ácidos grasos de semillas T2 a granel

Aproximadamente 10-25 semillas de *Arabidopsis* se aplastaron en 50 µL de TMSH utilizando un asa bacteriológica de plástico y se agregó 500 µL de hexano. Luego de mezclar en vórtex minuciosamente, la fase de hexano que contiene FAME se analizó mediante GC tal como se describe en ejemplos anteriores y los resultados para perfiles de ácidos grasos para aproximadamente 10-20 eventos para cada experimento se presentan en las Tablas 18 a 33 debajo. En cada Tabla, los ácidos grasos se identifican como 16:0 (palmitato), 18:0 (ácido esteárico), 18:1 (ácido oleico), 18:2 (ácido linoleico) y 18:3 (ácido alfa-linolénico), 20:0 (ácido eicosanoico), 20:1 ácido eicosenoico) 20:2 (ácido eicocadienoico) y 20:3 (ácido eicosatrienoico) y los resultados se expresan como un por ciento en peso (% en p.) de ácidos grasos totales. Para construcciones que expresan un amiARN fad2, los perfiles de ácidos grasos se clasifican de los más altos 18:1 a los más bajos. Para construcciones que expresan un amiARN fad3, los ácidos grasos se clasifican de los más bajos 18:1 a los más altos. Para construcciones que expresan un amiARN fael, los ácidos grasos se clasifican de los más bajos a los más altos 20:1. Un lote de semilla Columbia de tipo salvaje también se analizó y se mostró para comparar en cada Tabla como col-0.

Tabla 18: Perfiles de ácidos grasos de lípido de muestras de semilla T2 a granel para eventos transformados con pKR2032 que expresan el amiARN 159-fad2a

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2032-15	5,5	2,3	52,3	7,8	8,1	1,3	22,5	0,3
pKR2032-4	6,5	2,7	49,3	8,2	7,9	1,4	23,7	0,3
pKR2032-12	6,7	2,7	49,0	8,8	8,2	1,4	23,0	0,3
pKR2032-8	6,6	2,8	48,9	9,2	8,4	1,3	22,6	0,4
pKR2032-10	5,9	2,7	45,7	10,5	9,5	1,5	23,7	0,6
pKR2032-7	6,6	2,9	45,6	10,9	10,0	1,5	21,9	0,5
pKR2032-9	6,4	2,6	43,9	12,7	10,6	1,4	21,9	0,7
pKR2032-2	6,5	2,9	43,4	11,8	11,3	1,3	22,3	0,6
pKR2032-3	6,9	3,0	42,8	12,5	10,6	1,5	21,9	0,7
pKR2032-5	6,7	2,8	42,0	11,8	11,4	1,6	23,1	0,6
pKR2032-13	7,1	2,9	39,8	13,2	12,7	1,6	22,1	0,7
pKR2032-14	7,2	2,7	39,5	13,5	12,6	1,5	22,3	0,7
pKR2032-1	7,0	2,8	37,1	15,7	12,7	1,6	22,2	1,0
pKR2032-6	6,9	2,7	36,4	15,3	13,1	1,7	23,2	0,8
pKR2032-11	7,3	3,0	36,1	15,8	13,8	1,6	21,6	0,9
Col-0	10,2	2,7	14,0	32,4	21,6	1,3	15,8	1,9

Tabla 19: Perfiles de ácidos grasos de lípido de muestras de semilla T2 a granel para eventos transformados con pKR2033 que expresan el amiARN 159-fad2b

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2033-12	5,7	2,6	57,5	4,9	5,9	1,3	21,8	0,1
pKR2033-13	6,8	2,7	56,8	6,6	7,3	1,2	18,3	0,2
pKR2033-9	5,6	2,5	56,2	4,9	6,0	1,3	23,4	0,2
pKR2033-6	5,7	2,5	55,1	5,5	6,6	1,3	22,9	0,2
pKR2033-5	6,3	2,7	53,7	6,3	6,7	1,3	22,8	0,3
pKR2033-8	6,9	2,8	48,5	9,4	8,6	1,4	21,9	0,5
pKR2033-7	6,9	2,9	48,0	10,0	8,9	1,4	21,5	0,5
pKR2033-3	6,7	2,7	46,3	11,0	9,0	1,4	22,4	0,6
pKR2033-2	6,7	2,8	46,2	11,3	9,2	1,5	21,6	0,6
pKR2033-10	6,9	2,8	42,3	12,6	10,9	1,6	22,2	0,7
pKR2033-11	7,0	2,7	41,8	13,0	10,5	1,6	22,5	0,8
pKR2033-1	6,9	2,7	39,3	14,5	11,4	1,6	22,7	0,9
pKR2033-4	6,4	2,4	21,3	27,2	18,5	1,6	20,6	2,0
Col-0	10,2	2,7	14,0	32,4	21,6	1,3	15,8	1,9

Tabla 20: Perfiles de ácidos grasos de lípido de muestras de semilla T2 a granel para eventos transformados con pKR2034 que expresan el amiARN 159-fad2c

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2034-13	5,5	2,4	57,3	4,7	6,2	1,2	22,5	0,2
pKR2034-2	5,9	2,6	56,6	5,2	6,3	1,2	22,1	0,2
pKR2034-4	6,2	2,7	54,7	5,1	6,1	1,5	23,6	0,1
pKR2034-1	7,0	2,9	47,7	9,3	8,2	1,6	23,0	0,3
pKR2034-15	6,8	2,9	47,5	9,5	9,4	1,4	21,9	0,5
pKR2034-5	7,0	3,0	46,3	11,0	9,3	1,5	21,2	0,6
pKR2034-6	6,6	2,9	45,5	10,8	9,8	1,4	22,3	0,6
pKR2034-14	6,4	2,7	45,2	10,9	9,4	1,6	23,1	0,6
pKR2034-10	5,8	2,5	45,0	11,3	9,6	1,6	23,5	0,7
pKR2034-9	6,8	2,8	45,0	11,1	9,6	1,6	22,6	0,5
pKR2034-7	6,9	3,0	44,4	11,4	10,2	1,6	22,0	0,7
pKR2034-17	6,9	2,8	43,3	12,3	9,9	1,6	22,4	0,6
pKR2034-8	6,8	2,7	43,1	12,8	9,9	1,6	22,4	0,8
pKR2034-11	7,0	2,9	42,6	13,7	10,4	1,6	21,0	0,7
pKR2034-12	6,9	2,7	41,9	13,5	10,4	1,5	22,3	0,8
pKR2034-16	6,5	2,8	40,3	14,5	11,0	1,8	22,2	0,8
pKR2034-3	7,1	2,7	24,4	35,2	7,1	1,8	19,7	2,0
Col-0	10,2	2,7	14,0	32,4	21,6	1,3	15,8	1,9

Tabla 21: Perfiles de ácidos grasos de lípido de muestras de semilla T2 a granel para eventos transformados con pKR2037 que expresan el amiARN 396b-fad2a

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2037-12	6,4	2,6	43,4	12,5	10,1	1,5	22,8	0,7
pKR2037-14	6,5	2,7	43,3	10,9	11,3	1,6	23,2	0,5
pKR2037-7	6,8	2,9	43,2	12,6	11,0	1,5	21,4	0,6
pKR2037-9	6,8	2,9	43,0	10,3	12,9	1,5	22,3	0,3
pKR2037-11	7,2	2,8	38,0	14,6	13,2	1,5	21,8	0,7
pKR2037-10	7,1	2,9	36,6	15,1	13,6	1,5	22,5	0,8
pKR2037-2	6,5	2,7	36,6	14,3	14,1	1,6	23,7	0,6
pKR2037-13	7,2	2,9	36,2	15,7	13,3	1,7	22,3	0,8
pKR2037-5	6,5	2,8	36,0	14,6	15,8	1,5	22,2	0,6
pKR2037-8	7,3	2,7	36,0	15,0	14,5	1,5	22,3	0,8
pKR2037-6	6,7	2,7	33,5	17,1	14,7	1,5	23,0	0,8
pKR2037-1	7,4	2,9	33,5	18,1	14,7	1,7	20,8	0,9
pKR2037-3	6,9	2,7	25,5	22,5	18,0	1,6	21,6	1,2
pKR2037-4	7,2	2,8	22,1	24,7	18,1	1,6	21,8	1,5
pKR2037-15	7,9	3,0	19,0	26,5	20,0	1,8	20,0	1,7
Col-0	10,2	2,7	14,0	32,4	21,6	1,3	15,8	1,9

Tabla 22: Perfiles de ácidos grasos de lípido de muestras de semilla T2 a granel para eventos transformados con pKR2038 que expresan el amiARN 396b-fad2b

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2038-7	6,7	2,4	55,8	3,8	7,0	1,1	23,0	0,1
pKR2038-12	5,9	2,6	51,2	6,7	9,8	1,3	22,2	0,3
pKR2038-11	6,9	2,9	48,4	8,1	10,0	1,3	22,2	0,3
pKR2038-5	6,8	2,7	47,2	10,5	9,2	1,3	21,8	0,6
pKR2038-4	6,8	2,8	47,0	8,6	10,3	1,6	22,5	0,5
pKR2038-6	7,1	2,6	46,9	9,5	10,6	1,4	21,4	0,5
pKR2038-2	7,0	3,0	45,5	10,5	10,6	1,5	21,3	0,6
pKR2038-9	7,1	2,6	45,0	11,6	10,4	1,2	21,5	0,6
pKR2038-15	6,9	2,5	44,8	10,9	10,8	1,5	21,9	0,6
pKR2038-13	7,1	2,8	44,1	12,0	11,0	1,3	21,0	0,7
pKR2038-8	7,0	2,7	42,4	12,9	11,5	1,5	21,3	0,7
pKR2038-1	7,2	2,8	39,7	13,3	12,4	1,5	22,3	0,9
pKR2038-10	7,1	2,9	39,5	11,6	16,0	1,4	21,2	0,4
pKR2038-3	6,9	2,7	27,5	22,2	17,3	1,6	20,7	1,1
pKR2038-16	8,5	2,8	19,3	25,5	20,9	1,7	19,7	1,6
pKR2038-14	8,3	2,8	14,9	28,7	21,8	1,8	19,6	2,1
Col-0	10,2	2,7	14,0	32,4	21,6	1,3	15,8	1,9

Tabla 23: Perfiles de ácidos grasos de lípido de muestras de semilla T2 a granel para eventos transformados con pKR2039 que expresan el amiARN 396b-fad2c

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2039-4	6,7	2,8	55,5	4,7	6,8	1,3	22,0	0,1
pKR2039-14	6,6	2,9	54,1	6,4	7,4	1,3	21,1	0,2
pKR2039-5	6,2	2,5	54,0	5,3	6,9	1,4	23,5	0,2
pKR2039-8	6,7	2,9	53,3	6,8	7,4	1,4	21,2	0,3
pKR2039-11	6,7	2,6	49,4	8,3	8,7	1,4	22,5	0,4
pKR2039-3	6,2	2,4	48,9	9,6	9,5	1,1	21,8	0,5
pKR2039-13	6,6	2,6	48,8	10,3	8,8	1,2	21,1	0,6
pKR2039-7	6,9	2,6	43,6	11,2	10,7	1,5	22,9	0,7
pKR2039-1	7,2	2,7	43,1	12,1	11,2	1,5	21,5	0,7
pKR2039-9	6,9	2,7	42,7	12,6	11,8	1,3	21,3	0,8
pKR2039-10	7,1	2,8	42,2	11,4	12,9	1,4	21,5	0,5
pKR2039-2	7,5	2,8	39,8	14,0	12,8	1,5	21,0	0,6
pKR2039-12	7,6	2,9	31,4	18,0	16,5	1,6	21,2	0,9
pKR2039-6	7,8	2,9	22,2	23,7	20,1	1,7	20,0	1,6
Col-0	10,2	2,7	14,0	32,4	21,6	1,3	15,8	1,9

Tabla 24: Perfiles de ácidos grasos de lípido de muestras de semilla T2 a granel para eventos transformados con pKR2035 que expresan el amiARN 159-fad3a

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2035-15	8,0	2,6	16,8	45,4	2,7	1,7	20,0	2,7
pKR2035-8	8,1	2,8	15,6	46,7	3,0	1,9	19,2	2,7
pKR2035-9	7,5	2,6	18,3	44,0	3,3	1,7	20,1	2,4
pKR2035-10	8,4	3,0	15,7	43,9	5,8	2,0	18,7	2,6
pKR2035-7	8,3	2,8	16,6	42,1	6,3	1,9	19,5	2,5
pKR2035-6	8,3	3,0	16,0	42,5	6,9	1,9	18,9	2,5
pKR2035-12	8,6	2,8	14,5	43,3	6,9	2,2	19,0	2,6
pKR2035-14	7,9	2,9	16,8	42,1	7,1	1,9	18,9	2,4
pKR2035-11	7,9	2,9	16,4	41,1	7,1	1,9	20,3	2,5
pKR2035-16	8,5	3,0	16,4	41,3	7,4	1,9	19,0	2,4
pKR2035-3	7,4	2,8	16,9	40,5	7,4	2,0	20,5	2,4
pKR2035-13	7,8	2,9	17,0	40,7	7,9	2,0	19,5	2,2
pKR2035-17	7,9	2,8	16,3	40,7	7,9	2,0	19,9	2,5
pKR2035-5	8,0	2,9	16,3	41,0	8,0	1,9	19,5	2,4
pKR2035-2	8,6	3,0	14,7	40,4	9,8	1,9	19,0	2,5
pKR2035-1	6,9	2,3	18,2	34,6	13,1	1,7	21,0	2,1
pKR2035-4	8,3	3,0	14,3	30,1	20,8	1,9	19,4	2,1
Col-0	10,2	2,7	14,0	32,4	21,6	1,3	15,8	1,9

Tabla 25. Perfiles de ácidos grasos de lípido de muestras de semilla T2 a granel para eventos transformados con pKR2036 que expresan el amiARN 159-fad3b

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2036-11	7,6	2,9	16,5	46,9	1,5	2,0	20,0	2,6
pKR2036-3	7,8	2,8	17,3	46,6	1,5	1,7	19,8	2,5
pKR2036-10	8,3	2,8	16,5	46,7	1,9	1,9	19,3	2,6
pKR2036-18	8,1	2,9	17,4	46,5	2,1	1,7	19,0	2,4
pKR2036-2	8,0	2,8	17,0	46,4	2,3	1,8	19,2	2,5
pKR2036-12	8,2	2,9	16,6	45,8	2,4	1,8	19,7	2,6
pKR2036-9	8,1	3,1	16,7	44,1	4,8	1,9	18,8	2,3
pKR2036-4	8,2	2,7	16,0	43,3	5,3	1,8	20,1	2,6
pKR2036-13	8,3	3,0	15,9	44,5	5,6	1,7	18,4	2,5
pKR2036-15	8,3	2,8	15,0	44,4	5,6	1,9	19,2	2,7
pKR2036-1	8,0	2,9	15,7	44,0	5,9	1,9	19,1	2,5
pKR2036-17	8,3	2,9	15,5	43,8	5,9	1,9	19,0	2,7
pKR2036-5	8,3	2,9	15,5	43,5	6,1	2,0	19,3	2,6
pKR2036-14	7,3	2,4	17,8	42,7	6,2	1,5	19,9	2,3
pKR2036-8	8,2	2,7	16,1	41,4	7,2	1,7	20,1	2,5
pKR2036-7	8,2	3,0	15,4	42,7	7,5	1,8	18,9	2,5
pKR2036-16	8,1	2,7	14,6	41,7	8,1	1,7	20,3	2,7
pKR2036-6	7,6	2,6	17,2	37,5	10,9	1,7	20,3	2,2
Col-0	10,2	2,7	14,0	32,4	21,6	1,3	15,8	1,9

Tabla 26: Perfiles de ácidos grasos de lípido de muestras de semilla T2 a granel para eventos transformados con pKR2040 que expresan el amiARN 396b-fad3a

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2040-14	8,6	2,9	15,1	47,9	2,4	1,8	18,6	2,8
pKR2040-8	8,8	2,9	16,0	48,0	2,4	1,7	17,8	2,5
pKR2040-17	8,4	2,8	16,5	46,3	2,8	1,8	18,8	2,6
pKR2040-3	8,1	2,8	16,7	46,1	2,9	1,8	19,1	2,5
pKR2040-16	8,5	2,7	15,4	47,4	3,1	1,7	18,5	2,6
pKR2040-10	8,5	2,9	15,8	46,3	3,8	1,8	18,5	2,5
pKR2040-2	8,6	2,9	16,5	45,9	4,1	1,7	17,9	2,4
pKR2040-13	8,3	2,8	16,7	43,7	5,6	1,8	18,7	2,4
pKR2040-5	8,2	2,7	16,2	42,3	6,5	1,7	19,8	2,5
pKR2040-9	8,3	2,8	16,3	42,5	6,8	1,8	19,0	2,4
pKR2040-15	8,3	2,9	16,2	42,5	7,1	2,0	18,5	2,5
pKR2040-1	8,3	2,7	18,5	41,3	7,3	1,6	18,2	2,1
pKR2040-11	8,5	2,8	15,9	42,6	7,4	1,6	18,7	2,4
pKR2040-6	8,4	2,9	15,2	42,9	7,6	1,8	18,7	2,5
pKR2040-7	7,5	2,5	16,8	40,9	8,6	1,8	19,5	2,4

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2040-4	7,9	2,8	16,5	40,9	8,8	1,8	19,0	2,3
pKR2040-12	8,0	2,8	15,2	34,3	16,4	1,7	19,4	2,2
Col-0	10,2	2,7	14,0	32,4	21,6	1,3	15,8	1,9

Tabla 27: Perfiles de ácidos grasos de lípido de muestras de semilla T2 a granel para eventos transformados con pKR2041 que expresan el amiARN 396b-fad3b

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2040-14	8,6	2,9	15,1	47,9	2,4	1,8	18,6	2,8
pKR2041-4	8,2	2,8	16,8	46,8	2,3	1,8	18,8	2,5
pKR2041-2	8,1	2,8	16,9	45,6	3,3	1,9	19,1	2,4
pKR2041-11	8,0	2,8	15,9	45,6	3,8	1,9	19,4	2,5
pKR2041-7	8,5	2,9	15,5	45,7	4,8	1,7	18,3	2,5
pKR2041-1	8,4	2,8	16,1	44,8	5,8	1,7	18,0	2,4
pKR2041-6	8,6	2,7	16,4	43,5	6,1	1,7	18,7	2,3
pKR2041-8	8,2	2,9	16,9	42,3	6,4	1,7	19,2	2,4
pKR2041-10	7,8	2,6	17,9	41,9	6,5	1,8	19,3	2,2
pKR2041-5	7,6	2,5	15,6	44,2	7,0	1,7	18,7	2,7
pKR2041-3	8,7	2,9	15,5	43,6	7,2	1,9	17,9	2,4
pKR2041-9	8,3	2,8	17,1	42,0	7,3	1,9	18,5	2,2
Col-0	10,2	2,7	14,0	32,4	21,6	1,3	15,8	1,9

Tabla 28: Perfiles de ácidos grasos de lípido de muestras de semilla T2 a granel para eventos transformados con pKR2076 que expresan el amiARN 159-faela

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2076-13	8,4	2,2	32,0	49,5	6,3	0,5	1,1	0,0
pKR2076-12	8,9	2,4	31,4	49,3	5,4	0,5	2,1	0,0
pKR2076-2	8,6	2,6	31,6	49,0	4,9	0,6	2,7	0,0
pKR2076-15	8,9	2,2	31,4	47,1	6,9	0,5	3,0	0,0
pKR2076-9	9,4	2,8	28,2	47,9	8,3	0,0	3,4	0,0
pKR2076-6	8,9	2,4	30,4	48,3	5,7	0,6	3,5	0,3
pKR2076-4	8,2	2,4	32,4	47,4	5,1	0,6	3,7	0,3
pKR2076-14	8,5	2,4	30,3	47,1	7,4	0,5	3,7	0,0
pKR2076-11	8,6	2,5	29,6	47,6	7,2	0,6	3,9	0,0
pKR2076-3	8,6	2,8	29,3	42,7	10,5	0,7	4,9	0,4
pKR2076-10	8,8	2,5	28,0	46,3	8,1	0,6	5,3	0,5
pKR2076-1	8,7	2,4	29,4	45,2	7,9	0,7	5,4	0,5
pKR2076-7	9,0	2,7	27,6	42,4	11,2	0,7	5,8	0,5
pKR2076-5	9,0	2,6	27,5	42,1	11,6	0,7	5,9	0,5
pKR2076-8	9,1	2,6	26,3	43,5	10,9	0,7	6,3	0,6
Col-0	10,2	2,7	14,0	32,4	21,6	1,3	15,8	1,9

Tabla 29: Perfiles de ácidos grasos de lípido de muestras de semilla T2 a granel para eventos transformados con pKR2077 que expresan el amiARN 159-faela

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2077-12	8,1	2,6	30,5	34,9	21,6	0,5	1,6	0,2
pKR2077-14	9,3	2,6	27,9	36,7	20,4	0,6	2,2	0,2
pKR2077-2	9,4	2,9	25,6	37,7	21,3	0,6	2,3	0,2
pKR2077-1	9,1	3,1	25,0	37,1	21,8	0,6	3,1	0,3
pKR2077-7	9,4	2,8	23,3	37,2	21,6	0,6	4,6	0,4
pKR2077-9	9,6	2,8	22,8	36,0	23,1	0,6	4,6	0,5
pKR2077-3	9,1	2,7	24,0	36,3	22,2	0,6	4,6	0,5
pKR2077-8	9,6	2,8	23,5	35,6	22,1	0,7	5,2	0,5
pKR2077-10	8,8	2,5	25,2	35,2	21,1	0,8	5,9	0,6
pKR2077-4	9,0	3,0	24,2	35,1	21,2	0,7	6,1	0,6
pKR2077-13	9,8	2,8	21,1	36,5	21,8	0,8	6,5	0,7
pKR2077-11	9,0	3,0	23,3	35,3	20,9	0,8	6,9	0,7
Col-0	10,2	2,7	14,0	32,4	21,6	1,3	15,8	1,9

Tabla 30: Perfiles de ácidos grasos de lípido de muestras de semilla T2 a granel para eventos transformados con pKR2078 que expresan el amiARN 159-faelc

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2078-7	9,0	2,5	29,6	36,1	20,5	0,4	1,8	0,0
pKR2078-3	9,1	2,5	30,3	36,8	19,3	0,0	1,9	0,0
pKR2078-10	8,7	2,3	29,8	37,1	19,6	0,5	2,0	0,0
pKR2078-11	8,2	2,2	31,7	37,6	17,7	0,5	2,0	0,0
pKR2078-13	9,1	2,6	29,5	38,1	18,2	0,5	2,1	0,0
pKR2078-8	8,6	2,2	32,2	38,1	15,4	0,5	2,9	0,0
pKR2078-4	8,6	1,9	26,2	35,1	23,9	0,6	3,6	0,0
pKR2078-12	8,9	2,7	29,2	36,7	18,6	0,0	3,9	0,0
pKR2078-14	9,2	2,5	27,7	37,1	19,0	0,6	4,0	0,0
pKR2078-9	8,9	2,6	26,8	37,1	18,8	0,6	4,8	0,4
pKR2078-1	8,3	2,6	28,5	36,9	17,1	0,7	5,6	0,5
pKR2078-5	8,5	2,6	28,3	37,3	16,6	0,7	5,7	0,4
pKR2078-2	9,4	2,9	26,7	34,4	19,1	0,8	6,0	0,6
pKR2078-6	9,1	2,6	22,9	34,8	18,5	1,0	10,1	1,0
Col-0	10,2	2,7	14,0	32,4	21,6	1,3	15,8	1,9

Tabla 31: Perfiles de ácidos grasos de lípido de muestras de semilla T2 a granel para eventos transformados con pKR2079 que expresan el amiARN 396b-faela

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2079-9	8,8	2,3	29,6	47,4	10,4	0,0	1,5	0,0
pKR2079-6	9,5	2,8	28,4	44,3	12,7	0,0	2,2	0,0
pKR2079-15	8,7	2,6	29,7	45,9	10,2	0,5	2,4	0,0

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2079-1	8,4	2,6	29,0	43,7	13,1	0,5	2,7	0,0
pKR2079-4	10,3	2,3	28,1	44,7	10,6	0,5	3,4	0,0
pKR2079-12	10,4	2,9	26,5	41,0	15,5	0,0	3,9	0,0
pKR2079-10	9,9	2,7	26,0	41,9	15,4	0,0	4,0	0,0
pKR2079-14	9,4	2,7	23,9	40,2	17,2	0,7	5,4	0,5
pKR2079-7	8,7	2,4	29,2	42,7	11,6	0,0	5,4	0,0
pKR2079-13	8,7	2,9	27,6	43,1	10,8	0,7	5,7	0,5
pKR2079-8	9,5	2,4	23,9	39,6	18,2	0,0	6,4	0,0
pKR2079-2	8,2	2,4	28,1	40,2	13,4	0,6	6,4	0,6
pKR2079-3	9,0	2,5	25,8	39,9	15,1	0,7	6,5	0,6
pKR2079-5	8,9	2,6	25,9	43,4	11,4	0,8	6,5	0,5
pKR2079-11	9,0	2,5	19,4	34,6	17,4	0,0	15,7	1,4
Col-0	10,2	2,7	14,0	32,4	21,6	1,3	15,8	1,9

Tabla 32: Perfiles de ácidos grasos de lípido de muestras de semilla T2 a granel para eventos transformados con pKR2081 que expresan el amiARN 396b-faelb

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2081-1	9,3	2,8	28,7	36,7	20,5	0,5	1,6	0,0
pKR2081-5	9,1	2,7	29,7	37,9	18,3	0,5	1,8	0,0
pKR2081-14	8,3	2,7	29,8	36,3	19,1	0,5	3,3	0,0
pKR2081-3	8,9	2,7	26,8	36,4	20,1	0,6	4,5	0,0
pKR2081-9	9,0	2,9	18,0	33,4	17,6	1,4	16,2	1,6
pKR2081-11	8,8	2,6	18,5	33,3	17,4	1,2	16,7	1,5
pKR2081-7	8,3	2,8	18,5	33,0	17,7	1,3	16,7	1,6
pKR2081-13	8,9	2,7	17,5	32,2	18,7	1,2	17,3	1,6
pKR2081-12	8,9	2,4	17,4	32,8	18,2	1,3	17,5	1,6
pKR2081-2	8,9	2,5	16,3	33,5	18,3	1,2	17,7	1,6
pKR2081-6	8,0	2,7	18,5	32,2	18,1	1,3	17,7	1,5
pKR2081-8	9,1	2,6	16,8	33,2	17,5	1,3	17,8	1,6
pKR2081-4	8,2	2,7	17,8	32,5	17,7	1,3	18,2	1,6
pKR2081-10	8,0	2,3	18,0	32,1	18,4	1,2	18,3	1,6
Col-0	10,2	2,7	14,0	32,4	21,6	1,3	15,8	1,9

Tabla 33: Perfiles de ácidos grasos de lípido de muestras de semilla T2 a granel para eventos transformados con pKR2080 que expresan el amiARN 396b-faelc

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2080-10	8,7	2,5	30,0	39,9	17,0	0,5	1,5	0,0
pKR2080-5	8,7	2,5	30,9	37,2	18,7	0,5	1,5	0,0
pKR2080-2	9,3	2,7	28,7	36,7	20,4	0,5	1,8	0,0
pKR2080-15	9,5	2,7	27,1	37,7	19,5	0,5	2,9	0,0
pKR2080-3	8,9	2,8	28,5	37,3	18,8	0,6	3,1	0,0

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2080-6	8,9	2,7	26,9	36,9	20,4	0,5	3,4	0,3
pKR2080-13	9,2	2,6	26,5	37,6	18,4	0,6	4,6	0,5
pKR2080-1	8,9	2,6	27,0	37,0	18,6	0,7	4,9	0,5
pKR2080-16	8,7	2,7	26,7	37,1	18,7	0,6	5,1	0,4
pKR2080-4	8,3	2,5	28,2	35,7	18,9	0,6	5,3	0,4
pKR2080-8	8,1	2,7	27,8	36,5	18,4	0,6	5,5	0,4
pKR2080-14	8,5	2,5	27,1	36,8	18,4	0,7	5,5	0,5
pKR2080-11	8,5	2,5	27,5	36,4	18,3	0,6	5,7	0,5
pKR2080-9	9,2	2,7	25,4	36,8	18,5	0,7	6,2	0,6
pKR2080-12	8,8	2,5	24,6	36,5	19,1	0,7	7,2	0,7
pKR2080-7	8,6	2,4	25,0	35,9	17,2	0,8	9,3	0,9
Col-0	10,2	2,7	14,0	32,4	21,6	1,3	15,8	1,9

Queda claro a partir de las Tablas 18 a 23 que los eventos que expresan amiARN fad2a, fad2b o fad2c en cualquiera de las estructuras principales de amiARN precursor 159 o 396b de soja funcionan para suprimir fad2 y por lo tanto aumentan el contenido 18:1 hasta un porcentaje tan alto como 57.5%, en semillas T2 a granel, en comparación con 14.0% para la semilla de tipo salvaje.

- 5 También resulta evidente a partir de las Tablas 24 a 27 que los eventos que expresan amiARN fad3a o fad3b en cualquiera de las estructuras principales de amiARN precursor 159 o 396b de soja funcionan para suprimir fad3 y por lo tanto disminuyen 18:3 hasta un porcentaje tan bajo como 1.5%, en semillas T2 a granel, en comparación con 21.6% para la semilla de tipo salvaje.

- 10 Las Tablas 28 a 33 muestran que los eventos que expresan amiARN faela, faelb o faelc en cualquiera de las estructuras principales de amiARN precursor 159 o 396b de soja funcionan para suprimir fael y por lo tanto disminuyen 20:1 hasta un porcentaje tan bajo como 1.1%, en semillas T2 a granel, en comparación con 15.8% para la semilla de tipo salvaje.

Análisis de ácidos grasos de semilla T3 a granel de plantas homocigotas

- 15 Todos los eventos T2 para todas las construcciones se colocaron en placas en Kanamicina tal como se describe anteriormente y esos eventos donde las plantas resistentes a la kanamicina se segregaban de plantas sensibles a la kanamicina por una relación de 3:1, lo que indica una sola inserción de copia, fueron analizadas para el perfil de ácidos grasos en semillas individuales.

- 20 Las semillas individuales se trituraron en 10 uL de TMSH, se agregó 20 uL de hexano y luego de 30 minutos, una parte de la fase de heptanos se inyectó en el GC y los FAME se analizaron tal como se describe anteriormente. Los eventos donde los fenotipos de ácidos grasos esperados segregaron 3:1 con fenotipos de tipo salvaje que tienen los cambios más grandes en perfiles de ácidos grasos se compararon con aquellos de semillas de tipo salvaje donde plantas avanzadas se cultivaron para obtener semillas T3.

- 25 Las semillas T3 se colocaron en placas de kanamicina tal como se describe anteriormente y aquellas que ya no segregaban para plantas sensibles a la kanamicina se consideraron homocigotas y en esas muestras, la semilla T3 se analizó en busca de un perfil de ácido graso a granel tal como se describe anteriormente con respecto a las semillas T2. La semilla T3 homocigota no se obtuvo para los eventos pKR2079 o pKR2081. También, los eventos pKR2077 se plantaron después que los otros y por lo tanto los perfiles de ácidos grasos de semillas T3 no se incluyeron aquí.

- 30 Los resultados para perfiles de ácidos grasos para lotes de semillas T3 homocigotas para un evento representativo de cada experimento se presenta en las Tablas 34 a 36 debajo. En cada Tabla, los ácidos grasos se identifican como 16:0 (palmitato), 18:0 (ácido esteárico), 18:1 (ácido oleico), 18:2 (ácido linoleico) y 18:3 (ácido alfa-linolénico), 20:0 (ácido eicosanoico), 20:1 ácido eicosenoico) 20:2 (ácido eicocadienoico) y 20:3 (ácido eicosatrienoico) y los resultados se expresan como un por ciento en peso (% en p.) de ácidos grasos totales. Para construcciones que expresan un amiARN fad2, los perfiles de ácidos grasos se clasifican de los más altos 18:1 a los más bajos. Para construcciones que expresan un amiARN fad3, los ácidos grasos se clasifican de los más bajos 18:1 a los más altos. Para construcciones que expresan un amiARN fael, los ácidos grasos se clasifican de los más bajos a los más altos 20:1. Un lote de semilla Columbia de tipo salvaje también se analizó y se mostró para comparar en cada Tabla como col-0.

Tabla 34: Perfiles de ácidos grasos de lípido de muestras de semilla T3 a granel para eventos transformados con pKR2032, pKR2033, pKR2034, pKR2037, pKR2038 o pKR2039 que tienen amiARN a fad2

Evento	amiARN	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2032-10-17	159-fad2a	7,0	2,7	57,6	5,9	6,2	0,9	18,9	0,0
pKR2032-10-10	159-fad2a	6,9	2,7	55,5	6,4	6,8	1,0	19,4	0,2
pKR2032-10-14	159-fad2a	6,8	2,6	55,2	6,4	6,8	1,0	19,7	0,2
pKR2033-8-2	159-fad2b	7,3	2,5	59,4	4,7	5,9	0,9	18,2	0,1
pKR2033-8-14	159-fad2b	7,1	2,7	59,1	4,4	5,6	1,0	19,0	0,1
pKR2033-8-9	159-fad2b	7,1	2,7	58,8	4,6	5,7	1,0	19,1	0,1
pKR2034-15-5	159-fad2c	7,4	2,7	58,6	4,3	6,4	0,9	18,8	0,0
pKR2034-15-3	159-fad2c	7,2	2,8	58,2	4,4	5,9	1,1	19,5	0,0
pKR2034-15-11	159-fad2c	6,9	2,8	58,0	4,8	6,0	1,1	19,6	0,0
pKR2037-12-15	396b-fad2a	6,9	2,5	60,4	6,0	4,5	0,9	18,1	0,0
pKR2037-12-9	396b-fad2a	6,2	2,5	58,6	5,7	4,3	1,1	20,3	0,1
pKR2037-12-11	396b-fad2a	6,7	2,4	58,1	5,9	5,2	1,0	19,8	0,0
pKR2038-4-10	396b-fad2b	0,0	0,0	64,1	0,0	0,0	0,0	35,9	0,0
pKR2038-4-9	396b-fad2b	7,6	2,7	57,3	4,6	6,8	1,0	19,0	0,1
pKR2038-4-6	396b-fad2b	7,1	2,8	57,1	4,7	6,7	1,0	19,6	0,0
pKR2039-11-4	396b-fad2c	6,6	2,7	58,5	3,5	5,3	1,1	21,0	0,1
pKR2039-11-15	396b-fad2c	6,6	2,7	58,0	3,8	5,1	1,2	21,2	0,0
pKR2039-11-14	396b-fad2c	6,2	2,5	56,7	3,7	5,5	1,2	22,7	0,1
Col-0		10,2	2,7	14,0	32,4	21,6	1,3	15,8	1,9

Tabla 35: Perfiles de ácidos grasos de lípido de muestras de semilla T3 a granel para eventos transformados con pKR2035, pKR2036, pKR2040 y pKR2041 que tienen amiARN a fad3

Evento	amiARN	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2035-7-15	159-fad3a	9,8	2,7	19,3	48,9	1,7	1,1	14,1	1,8
pKR2035-7-4	159-fad3a	8,6	2,6	18,0	47,3	1,7	1,3	16,7	2,2
pKR2035-7-9	159-fad3a	8,7	2,6	17,9	48,3	1,7	1,3	16,3	2,1
pKR2036-9-16	159-fad3b	8,0	2,5	18,7	46,7	2,0	1,3	17,2	2,0
pKR2036-9-17	159-fad3b	7,8	2,3	17,9	46,8	2,2	1,3	17,7	2,2
pKR2036-9-9	159-fad3b	7,9	2,4	17,8	46,5	2,2	1,4	17,7	2,2

Evento	amiARN	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2040-16-13	396b-fad3a	7,6	2,4	19,5	45,0	1,6	1,5	18,4	2,1
pKR2040-16-12	396b-fad3a	8,1	2,7	18,1	46,2	1,6	1,5	17,8	2,2
pKR2040-16-3	396b-fad3a	8,2	2,4	18,0	46,9	1,7	1,4	17,5	2,2
pKR2041-7-11	396b-fad3b	7,9	2,8	19,5	45,0	1,6	1,6	17,8	2,0
pKR2041-7-3	396b-fad3b	8,2	2,9	18,5	46,1	1,5	1,6	17,2	2,2
pKR2041-7-8	396b-fad3b	7,9	3,0	18,2	45,2	1,5	1,7	18,3	2,3
Col-0		10,2	2,7	14,0	32,4	21,6	1,3	15,8	1,9

Tabla 36: Perfiles de ácidos grasos de lípido de muestras de semilla T3 a granel para eventos transformados con pKR2076, pKR2078 o pKR2080 que tienen amiARN a fael

Evento	amiARN	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2076-15-7	159-faela	10,5	2,5	30,2	50,4	4,8	0,4	1,1	0,0
pKR2076-15-2	159-faela	9,2	3,0	28,7	51,2	5,3	0,6	1,6	0,2
pKR2076-15-1	159-faela	9,3	2,9	28,5	51,3	5,3	0,6	1,6	0,2
pKR2078-8-4	159-faelc	10,0	3,0	27,9	52,1	5,0	0,5	1,3	0,1
pKR2080-5-10	396b-faelc	9,5	3,0	27,5	37,1	20,7	0,5	1,3	0,2
Col-0		10,2	2,7	14,0	32,4	21,6	1,3	15,8	1,9

Queda claro a partir de la Tabla 34 que los eventos que expresan amiARN fad2a, fad2b o fad2c en cualquiera de las estructuras principales de amiARN precursor 159 o 396b de soja funcionan para suprimir fad2 y por lo tanto aumentan el contenido 34:1 hasta un porcentaje tan alto como 64.1%, en semillas T3 homocigotas a granel, en comparación con 14.0% para la semilla de tipo salvaje.

También resulta evidente a partir de la Tabla 35 que los eventos que expresan amiARN fad3a o fad3b en cualquiera de las estructuras principales de amiARN precursor 159 o 396b de soja funcionan para suprimir fad3 y por lo tanto disminuyen 18:3 hasta un porcentaje tan bajo como 1.5%, en semillas T3 homocigotas a granel, en comparación con 21.6% para la semilla de tipo salvaje. La Tabla 36 muestra que los eventos que expresan amiARN faela o faelc en el amiARN precursor 159 o faelc en la estructura principal de amiARN precursor 396b de soja funcionan para suprimir fael y por lo tanto disminuyen 20:1 hasta un porcentaje tan bajo como 1.1%, en semillas T3 homocigotas a granel, en comparación con 15.8% para la semilla de tipo salvaje.

Ejemplo 8

Construcciones que expresan combinaciones de amiARN para silenciar genes biosintéticos de ácidos grasos de Arabidopsis y/o Brassica

De la Tabla 17, los precursores de amiARN 159-Atfad2a (SEQ ID NO: 136), 159-Atfad2b (SEQ ID NO: 137), 159-Atfad2c (SEQ ID NO: 138), 159-Atfad3a (SEQ ID NO: 142), 159-Atfad3b (SEQ ID NO: 143), 159-Atfaela (SEQ ID NO: 146), 159-Atfaelb (SEQ ID NO: 147) y 159-Atfaelc (SEQ ID NO: 148) tienen 958 nt de longitud y son sustancialmente similares a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por el amiARN fad2a (SEQ ID NO: 80), amiARN fad2b (SEQ ID NO: 83), amiARN fad2c (SEQ ID NO: 86), amiARN fad3a (SEQ ID NO: 89), amiARN fad3b (SEQ ID NO: 92), amiARN fae1a (SEQ ID NO: 95), amiARN fae1b (SEQ ID NO: 98), o amiARN fae1c (SEQ ID NO: 101), respectivamente y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star fad2a (SEQ ID NO: 81), secuencia Star fad2b (SEQ ID NO: 84), secuencia Star fad2c (SEQ ID NO: 87), secuencia Star fad3a (SEQ ID NO: 90), secuencia Star fad3b (SEQ ID NO: 93), secuencia Star fae1a (SEQ ID NO: 96), secuencia Star fae1b (SEQ ID NO: 99), o secuencia Star fae1c (SEQ ID NO: 102), respectivamente.

De la Tabla 17, los precursores de amiARN 396b-Atfad2a (SEQ ID NO: 139), 396b-Atfad2b (SEQ ID NO: 140), 396b-Atfad2c (SEQ ID NO: 141), 396b-Atfad3a (SEQ ID NO: 144), 396b-Atfad2b (SEQ ID NO: 145), 396b-faela (SEQ ID NO: 149), 396b-faelb (SEQ ID NO: 150) y 396b-faelc (SEQ ID NO: 151) tienen 574 nt de longitud y son sustancialmente similares a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 153 donde los nucleótidos 196 a 216 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por el amiARN fad2a (SEQ ID NO: 80), amiARN fad2b (SEQ ID NO: 83), amiARN fad2c (SEQ ID NO: 86), amiARN fad3a (SEQ ID NO: 89), amiARN fad3b (SEQ ID NO: 92), amiARN fae1a (SEQ ID NO: 95), amiARN fae1b (SEQ ID NO: 98), o amiARN fae1c (SEQ ID NO: 101), respectivamente y donde los nucleótidos 262 a 282 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por la secuencia Star fad2a (SEQ ID NO: 82), secuencia Star fad2b (SEQ ID NO: 85), secuencia Star fad2c (SEQ ID NO: 88), secuencia Star fad3a (SEQ ID NO: 91), secuencia Star fad3b (SEQ ID NO: 94), secuencia Star 396b-fae1 a (SEQ ID NO: 97), secuencia Star 396b-fae1 b (SEQ ID NO: 100), o secuencia Star 396b-fae1c (SEQ ID NO: 103), respectivamente.

Utilizando métodos de clonación conocidos por los expertos en la técnica (por ejemplo, PCR, digestión de la enzima de restricción, etc.), precursores de amiARN individuales que se dirigen ya sea a fad2 y fad3, mostrados en la Tabla 17, se combinaron juntos en una sola unidad transcripcional de modo que ambos precursores de amiARN se expresaron juntos posterior al promotor de beta-conglicina individual. En algunos casos, un tercer precursor de amiARN que se dirige a fae1 también se combinó con los precursores de amiARN fad2 y fad3 para generar unidades de amiARN triples que se dirigen a todos los tres genes. En cada caso, el casete completo que incluye el promotor de beta-conglicina, los múltiples amiARN y el terminador de transcripción de faseolina se flanquearon mediante sitios de Ascl para permitir la clonación en otros vectores de expresión.

Estos plásmidos luego se digirieron con Ascl y el fragmento que contiene el casete de expresión amiARN se subclonó en el sitio Ascl del vector de expresión pKR92, que se describió previamente en WO2007/06110109 (publicada el 31 de mayo de 2007), cuyo contenido se incorpora a la presente mediante referencia.

Las combinaciones de amiARN hechas y las secuencias de vectores de expresión correspondientes se describen en la Tabla 37.

Tabla 37. Combinaciones de amiARN precursores y vectores de expresión de amiARN para secuencias génicas biosintéticas de ácido graso de Arabidopsis y/o Brassica dirigidas para silenciamiento

<u>Precursor de amiARN</u>	<u>Precursor de amiARN SEQ ID NO</u>	<u>Nombre de plásmido</u>	<u>Plásmido SEQ ID NO</u>
amiARN 159-Atfad2a/396b-Atfad3b	154	pKR2232	155
amiARN 159-Atfad2b/396b-Atfad3b	156	pKR2233	157
amiARN 396b-Atfad3b/159-Atfad2a	158	pKR2234	159
amiARN 396b-Atfad3b/159-Atfad2b	160	pKR2235	161
amiARN 159-Atfad2a/396b-Atfad3b/159-Atfae1a	162	pKR2248	163
amiARN 396b-Atfad3b/159-Atfad2a/159-fae1 a	164	pKR2249	165
amiARN 159-Atfad2b/396b-Atfad3b/159-Atfae1a	166	pKR2250	167
amiARN 396b-Atfad3b/159-Atfad2b/159-Atfae1a	168	pKR2251	169

De la Tabla 37, el precursor de amiARN 159-Atfad2a/396b-Atfad3b (SEQ ID NO: 154), que combina los precursores de amiARN 159-Atfad2a (SEQ ID NO: 136) y 396b-Atfad3b (SEQ ID NO: 143) en una unidad transcripcional, tiene 1556 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 (de nt 16 a 974 de 159-Atfad2a/396b-Atfad3b) donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN 159-Atfad2a (SEQ ID NO: 80) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star 159-Atfad2a (SEQ ID NO: 81). El precursor de amiARN 159-Atfad2a/396b-Atfad3b (SEQ ID NO: 154) también es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 153 (de nt 982 a 1555 de 159-Atfad2a/396b-Atfad3b) donde los nucleótidos 196 a 216 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por amiARN 396b-Atfad3b (SEQ ID NO: 92) y donde los nucleótidos 262 a 282 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por la secuencia Star de amiARN 396b-Atfad3b (SEQ ID NO: 94).

De la Tabla 37, el precursor de amiARN 159-Atfad2b/396b-Atfad3b (SEQ ID NO: 156), que combina los precursores de amiARN 159-Atfad2b (SEQ ID NO: 137) y 396b-Atfad3b (SEQ ID NO: 143) en una unidad transcripcional, tiene 1556 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 (de nt 16 a 974 de 159-Atfad2b/396b-Atfad3b) donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son

reemplazados por amiARN 159-Atfad2b (SEQ ID NO: 83) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star 159-Atfad2b (SEQ ID NO: 84). El precursor de amiARN 159-Atfad2b/396b-Atfad3b (SEQ ID NO: 156) también es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 153 (de nt 982 a 1555 de 159-Atfad2b/396b-Atfad3b) donde los nucleótidos 196 a 216 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por amiARN 396b-Atfad3b (SEQ ID NO: 92) y donde los nucleótidos 262 a 282 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por la secuencia Star de amiARN 396b-Atfad3b (SEQ ID NO: 94).

De la Tabla 37, el precursor de amiARN 396b-Atfad3b/159-Atfad2a (SEQ ID NO: 158), que combina los precursores de amiARN y 396b-Atfad3b (SEQ ID NO: 143) y 159-Atfad2a (SEQ ID NO: 136) en una unidad transcripcional, tiene 1556 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 153 (de nt 7 a 581 de 396b-Atfad3b/159-Atfad2a) donde los nucleótidos 196 a 216 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por amiARN 396b-Atfad3b (SEQ ID NO: 92) y donde los nucleótidos 262 a 282 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por la secuencia Star de amiARN 396b-Atfad3b (SEQ ID NO: 94). El precursor de amiARN 396b-Atfad3b/159-Atfad2a (SEQ ID NO: 158) también es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 (de nt 588 a 1546 de 396b-Atfad3b/159-Atfad2a) donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN 159-Atfad2a (SEQ ID NO: 80) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star 159-Atfad2a (SEQ ID NO: 81).

De la Tabla 37, el precursor de amiARN 396b-Atfad3b/159-Atfad2b (SEQ ID NO: 160), que combina los precursores de amiARN y 396b-Atfad3b (SEQ ID NO: 143) y 159-Atfad2b (SEQ ID NO: 137) en una unidad transcripcional, tiene 1556 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 153 (de nt 7 a 581 de 396b-Atfad3b/159-Atfad2b) donde los nucleótidos 196 a 216 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por amiARN 396b-Atfad3b (SEQ ID NO: 92) y donde los nucleótidos 262 a 282 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por la secuencia Star de amiARN 396b-Atfad3b (SEQ ID NO: 94). El precursor de amiARN 396b-Atfad3b/159-Atfad2b (SEQ ID NO: 160) también es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 (de nt 588 a 1546 de 396b-Atfad3b/159-Atfad2b) donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN 159-Atfad2b (SEQ ID NO: 83) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star 159-Atfad2b (SEQ ID NO: 84).

De la Tabla 37, el precursor de amiARN 159-Atfad2a/396b-Atfad3b/159-Atfae1a (SEQ ID NO: 162), que combina los precursores de amiARN 159-Atfad2a (SEQ ID NO: 136), 396b-Atfad3b (SEQ ID NO: 143) y 159-Atfae1a (SEQ ID NO: 146) en una unidad transcripcional, tiene 2530 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 (de nt 25 a 983 de 159-Atfad2a/396b-Atfad3b/159-Atfae1a) donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN 159-Atfad2a (SEQ ID NO: 80) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star 159-Atfad2a (SEQ ID NO: 81). El precursor de amiARN 159-Atfad2a/396b-Atfad3b/159-Atfae1a (SEQ ID NO: 162) también es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 153 (de nt 991 a 1564 de 159-Atfad2a/396b-Atfad3b/159-Atfae1a) donde los nucleótidos 196 a 216 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por amiARN 396b-Atfad3b (SEQ ID NO: 92) y donde los nucleótidos 262 a 282 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por la secuencia Star de amiARN 396b-Atfad3b (SEQ ID NO: 94). El precursor de amiARN 159-Atfad2a/396b-Atfad3b/159-Atfae1a (SEQ ID NO: 162) también es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 (de nt 1571 a 2529 de 159-Atfad2a/396b-Atfad3b/159-Atfae1a) donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN 159-Atfae1a (SEQ ID NO: 95) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star 159-Atfae1a (SEQ ID NO: 96).

De la Tabla 37, el precursor de amiARN 396b-Atfad3b/159-Atfad2a/159-Atfae1a (SEQ ID NO: 164), que combina los precursores de amiARN y 396b-Atfad3b (SEQ ID NO: 143), 159-Atfad2a (SEQ ID NO: 136) y 159-Atfae1a (SEQ ID NO: 146) en una unidad transcripcional, tiene 2530 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 153 (de nt 16 a 590 de 396b-Atfad3b/159-Atfad2a/159-Atfae1a) donde los nucleótidos 196 a 216 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por amiARN 396b-Atfad3b (SEQ ID NO: 92) y donde los nucleótidos 262 a 282 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por la secuencia Star de amiARN 396b-Atfad3b (SEQ ID NO: 94). El precursor de amiARN 396b-Atfad3b/159-Atfad2a/159-Atfae1a (SEQ ID NO: 164) también es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 (de nt 597 a 1555 de 396b-Atfad3b/159-Atfad2a/159-Atfae1a) donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN 159-Atfad2a (SEQ ID NO: 80) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star 159-Atfad2a (SEQ ID NO: 81). El precursor de amiARN 396b-Atfad3b/159-Atfad2a/159-Atfae1a (SEQ ID NO: 164) también es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 (de nt 1571 a 2529 de 396b-Atfad3b/159-Atfad2a/159-Atfae1a) donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN 159-Atfae1a (SEQ ID NO: 95) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star 159-Atfae1a (SEQ ID NO: 96).

De la Tabla 37, el precursor de amiARN 159-Atfad2b/396b-Atfad3b/159-Atfae1a (SEQ ID NO: 166), que combina los precursores de amiARN 159-Atfad2b (SEQ ID NO: 137), 396b-Atfad3b (SEQ ID NO: 143) y 159-Atfae1a (SEQ ID NO: 146) en una unidad transcripcional, tiene 2530 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 (de nt 25 a 983 de 159-Atfad2b/396b-Atfad3b/159-Atfae1a)

donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN 159-Atfad2b (SEQ ID NO: 83) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star 159-Atfad2a (SEQ ID NO: 84). El precursor de amiARN 159-Atfad2b/396b-Atfad3b/159-Atfae1 (SEQ ID NO: 166) también es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 153 (de nt 991 a 1564 de 159-Atfad2b/396b-Atfad3b/159-Atfae1a) donde los nucleótidos 196 a 216 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por amiARN 396b-Atfad3b (SEQ ID NO: 92) y donde los nucleótidos 262 a 282 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por la secuencia Star de amiARN 396b-Atfad3b (SEQ ID NO: 94). El precursor de amiARN 159-Atfad2b/396b-Atfad3b/159-Atfae1 (SEQ ID NO: 166) también es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 (de nt 1571 a 2529 de 159-Atfad2b/396b-Atfad3b/159-Atfae1a) donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN 159-Atfae1a (SEQ ID NO: 95) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star 159-Atfae1a (SEQ ID NO: 96).

De la Tabla 37, el precursor de amiARN 396b-Atfad3b/159-Atfad2b/159-Atfae1a (SEQ ID NO: 168), que combina los precursores de amiARN y 396b-Atfad3b (SEQ ID NO: 143), 159-Atfad2b (SEQ ID NO: 137) y 159-Atfae1a (SEQ ID NO: 146) en una unidad transcripcional, tiene 2530 nt de longitud y es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 153 (de nt 16 a 590 de 396b-Atfad3b/159-Atfad2b/159-Atfae1a) donde los nucleótidos 196 a 216 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por amiARN 396b-Atfad3b (SEQ ID NO: 92) y donde los nucleótidos 262 a 282 de la SEQ ID NO: 153 son reemplazados por la secuencia Star de amiARN 396b-Atfad3b (SEQ ID NO: 94). El precursor de amiARN 396b-Atfad3b/159-Atfad2b/159-Atfae1a (SEQ ID NO: 168) también es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 (de nt 597 a 1555 de 396b-Atfad3b/159-Atfad2b/159-Atfae1a) donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN 159-Atfad2b (SEQ ID NO: 83) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star 159-Atfad2b (SEQ ID NO: 84). El precursor de amiARN 396b-Atfad3b/159-Atfad2b/159-Atfae1a (SEQ ID NO: 168) también es sustancialmente similar a la secuencia de desoxirribonucleótidos establecida en la SEQ ID NO: 152 (de nt 1571 a 2529 de 396b-Atfad3b/159-Atfad2b/159-Atfae1a) donde los nucleótidos 276 a 296 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por amiARN 159-Atfae1a (SEQ ID NO: 95) y donde los nucleótidos 121 a 141 de la SEQ ID NO: 152 son reemplazados por la secuencia Star 159-Atfae1a (SEQ ID NO: 96).

Además de los precursores de amiARN dobles que se dirigen a fad2 y fad3 y los precursores de amiARN triples que se dirigen a fad2, fad3 y fae1, las construcciones se hicieron donde un precursor de amiARN doble que se dirige a fad2 y fad3 se colocó posterior al promotor de beta-conglicina y un segundo precursor de amiARN que se dirige a fae1 se colocó en un casete separado posterior al promotor Gy1 de glicina de soja (Chen, Z-L, et al., EMBO J. 7:297-302 (1988)).

Las combinaciones de amiARN hechas y las secuencias de vector correspondientes se describen en la Tabla 38.

Tabla 38. Combinaciones de amiARN precursores y vectores de expresión de amiARN para secuencias génicas biosintéticas de ácido graso de Arabidopsis y/o Brassica dirigidas para silenciamiento

<u>Precursor de amiARN 1 (promotor de beta-conglicina)</u>	<u>Precursor de amiARN 1 SEQ ID NO</u>	<u>Precursor de amiARN 2 (promotor de glicina Gy1)</u>	<u>Precursor de amiARN 2 SEQ ID NO</u>	<u>Nombre de plásmido</u>	<u>Plásmido SEQ ID NO</u>
amiARN 159-Atfad2a/396b-Atfad3b	154	amiARN 159-faela	146	pKR2333	170
amiARN 159-Atfad2b/396b-Atfad3b	156	amiARN 159-faela	146	pKR2334	171
amiARN 396b-Atfad3b/159-Atfad2a	158	amiARN 159-faela	146	pKR2335	172
amiARN 396b-Atfad3b/159-Atfad2b	160	amiARN 159-faela	146	pKR2336	173

Ejemplo 9

Análisis fenotípico de semilla de Arabidopsis que expresa combinaciones de amiARN para silenciar genes biosintéticos de ácidos grasos de Arabidopsis y/o Brassica

Transformación de plantas Arabidopsis

Los plásmidos enumerados en la Tabla 37 o 38 (Ejemplo 8) se introdujeron en *Agrobacterium tumefaciens* NTL4 (Luo et ál, Molecular Plant-Microbe Interactions (2001) 14(1):98-103) y las plantas Arabidopsis se sumergieron

repetidamente en las suspensiones de *Agrobacterium* respectivas exactamente tal como se describe en la presente. Las plantas se mantuvieron, las semillas T1 se cosecharon y los transformantes se seleccionaron para cada experimento también exactamente como se describe en la presente.

5 Además, todas las semillas T2 y T3 de eventos seleccionados se cosecharon y analizaron exactamente como en la presente.

Análisis de ácidos grasos de semillas T2 a granel

10 Los perfiles de ácidos grasos para aproximadamente 10-20 eventos para cada experimento (plantas transformadas con construcciones enumeradas en la Tabla 37) se presentan en las Tablas 39 a 41 debajo. En cada Tabla, los ácidos grasos se identifican como 16:0 (palmitato), 18:0 (ácido esteárico), 18:1 (ácido oleico), 18:2 (ácido linoleico) y 18:3 (ácido alfa-linolénico), 20:0 (ácido eicosanoico), 20:1 ácido eicosenoico) 20:2 (ácido eicocadienoico) y 20:3 (ácido eicosatrienoico) y los resultados se expresan como un por ciento en peso (% en p.) de ácidos grasos totales. Los perfiles de ácidos grasos están clasificados de más altos 18:1 a más bajos. Un lote de semillas Columbia de tipo salvaje también se analizó y se mostró para su comparación en cada Tabla como col-0.

15 Tabla 39: Perfiles de ácidos grasos de lípido de muestras de semilla T2 a granel para eventos transformados con pKR2232, pKR2233, pKR2234 o pKR2235 que expresan los amiARN dobles que se dirigen a fad2 y fad3.

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
Col-0	10,2	2,7	14,0	32,4	21,6	1,3	15,8	1,9
pKR2232-1	6,9	2,6	55,9	10,5	3,1	1,0	19,7	0,2
pKR2232-6	6,7	2,6	54,7	10,7	2,7	1,2	21,2	0,2
pKR2232-2	6,4	2,5	53,9	11,3	3,8	1,1	20,8	0,3
pKR2232-3	6,5	2,6	53,4	11,3	4,4	1,0	20,5	0,3
pKR2232-8	6,3	2,2	53,3	12,3	4,6	1,0	20,1	0,3
pKR2232-4	7,2	2,6	49,9	13,1	4,9	1,2	20,8	0,4
pKR2232-5	6,9	2,5	49,1	14,5	5,1	1,1	20,4	0,5
pKR2232-7	7,3	2,6	40,5	19,1	8,9	1,2	19,6	0,8
pKR2233-5	6,4	2,4	60,1	7,2	2,0	1,0	20,6	0,1
pKR2233-3	7,0	2,7	58,1	8,7	2,4	1,0	20,0	0,1
pKR2233-1	6,1	2,7	58,1	8,1	2,0	1,2	21,6	0,2
pKR2233-9	7,4	2,7	54,8	10,6	3,0	1,1	20,2	0,2
pKR2233-8	6,5	2,2	54,2	10,4	4,5	1,0	20,9	0,3
pKR2233-10	6,6	2,5	53,2	11,1	4,6	1,1	20,5	0,4
pKR2233-2	6,4	2,8	52,3	11,0	4,6	1,3	21,2	0,4
pKR2233-11	7,1	2,7	49,2	14,0	4,1	1,2	21,3	0,4
pKR2233-6	6,8	2,7	46,8	15,6	6,5	1,2	19,8	0,6
pKR2233-7	7,3	2,9	45,5	16,2	7,2	1,1	19,2	0,6
pKR2233-4	7,2	2,4	43,0	17,8	7,1	1,2	20,6	0,7
pKR2234-1	5,8	2,5	52,5	13,4	1,4	1,2	22,9	0,3
pKR2234-9	6,8	2,8	49,5	17,3	1,7	1,2	20,4	0,3
pKR2234-5	7,1	2,6	47,4	18,5	2,4	1,2	20,4	0,4

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2234-10	7,2	2,9	47,3	17,5	2,7	1,2	20,7	0,4
pKR2234-13	7,3	2,6	45,2	20,5	1,9	1,2	21,0	0,5
pKR2234-6	7,4	3,0	43,7	19,4	5,0	1,2	19,7	0,6
pKR2234-11	7,3	2,8	40,6	21,2	5,3	1,3	20,8	0,7
pKR2234-4	7,6	2,8	37,9	24,3	6,1	1,2	19,3	0,7
pKR2234-7	7,7	2,7	37,3	24,4	6,2	1,3	19,5	0,8
pKR2234-8	7,5	2,8	36,8	24,9	5,9	1,3	19,9	0,8
pKR2234-3	8,1	2,7	33,9	28,5	5,5	1,3	19,1	0,9
pKR2234-12	8,5	2,7	28,4	31,0	7,3	1,2	19,8	1,1
pKR2234-2	8,6	2,8	22,3	34,9	8,4	1,5	20,2	1,3
pKR2234-14	8,0	2,9	18,1	41,9	6,6	1,6	18,9	2,1
pKR2235-6	6,3	2,6	53,0	12,9	1,7	1,2	22,1	0,3
pKR2235-10	6,7	2,7	52,0	15,6	2,5	1,0	19,2	0,3
pKR2235-5	6,1	2,7	52,1	12,9	1,6	1,3	22,9	0,3
pKR2235-4	6,2	2,6	48,0	16,2	2,5	1,3	22,8	0,4
pKR2235-8	8,2	2,8	45,6	20,5	3,0	1,1	18,3	0,4
pKR2235-12	7,6	2,8	45,4	19,1	4,2	1,1	19,3	0,5
pKR2235-7	6,3	3,0	45,5	16,8	4,0	1,5	22,4	0,6
pKR2235-9	7,3	2,5	45,0	19,3	5,0	1,0	19,4	0,5
pKR2235-11	7,4	2,7	44,5	19,6	5,0	1,1	19,1	0,5
pKR2235-13	7,5	2,8	44,2	20,9	3,6	1,2	19,2	0,6
pKR2235-15	7,2	2,8	42,9	18,8	6,6	1,2	19,8	0,7
pKR2235-1	6,7	2,9	41,3	19,8	6,0	1,4	21,0	0,7
pKR2235-16	7,7	2,7	38,6	21,5	7,2	1,2	20,3	0,8
pKR2235-14	7,9	2,9	37,4	22,7	8,8	1,2	18,4	0,8
pKR2235-2	7,6	2,8	36,4	24,9	6,4	1,4	19,8	0,8
pKR2235-3	7,9	2,8	20,0	31,1	16,8	1,5	18,4	1,6

De la Tabla 39, los eventos que expresan amiARN dobles de fad2/fad3 funcionan para suprimir ambos fad2 y fad3 y aumentan el contenido 18:1 a un porcentaje tan alto como 60.1%, en semillas T2 a granel, en comparación con 14.0% para la semilla de tipo salvaje, con una disminución en contenido 18:3 a un porcentaje tan bajo como 2.0%, en comparación con 21.6% para la semilla de tipo salvaje. Además, el aumento en 18:1 fue mayor que en eventos que expresan un amiARN de fad2 solo donde el 18:1 más alto obtenido fue 57.5% (Tabla 19) en las semillas T2. También, la disminución en 18:3 fue más pronunciada que la observada en el mejor evento de solo amiARN de fad2, donde el 18:3 más bajo obtenido fue 5.9% (Tabla 19) y es comparable con el mejor evento de amiARN de solo amiARN de fad3 donde el 18:3 más bajo obtenido fue 1.5% (Tabla 25).

Es interesante notar que en el evento que tiene 60.1% 18:1 y 2% 18:3 (Tabla 39), el contenido 20:1 se aumenta a 20.6% de 15.8% observado en la semilla de tipo salvaje.

Tabla 40: Perfiles de ácidos grasos de lípido de muestras de semilla T2 a granel para eventos transformados con pKR2248, pKR2249, pKR2250 o pKR2251 que expresan los amiARN triples que se dirigen a fad2, fad3 y fael.

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
Col-0	10,2	2,7	14,0	32,4	21,6	1,3	15,8	1,9

ES 2 635 115 T3

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2248-17	6,8	2,2	71,7	10,7	3,5	0,6	4,3	0,2
pKR2248-6	8,1	2,7	68,6	12,3	3,5	0,6	4,1	0,1
pKR2248-18	8,0	2,7	66,8	12,8	4,2	0,6	4,7	0,2
pKR2248-15	7,5	2,5	65,4	14,1	4,0	0,7	5,5	0,3
pKR2248-4	8,2	2,8	64,4	13,0	4,8	0,8	5,6	0,4
pKR2248-12	8,1	2,6	58,7	16,4	6,0	0,7	6,9	0,5
pKR2248-11	7,7	2,4	58,2	16,3	6,7	0,8	7,4	0,5
pKR2248-1	7,4	2,5	58,0	15,8	6,6	0,8	8,3	0,5
pKR2248-3	7,4	2,7	57,6	15,6	7,1	0,9	8,1	0,6
pKR2248-2	8,3	2,7	56,6	17,7	6,1	0,7	7,4	0,4
pKR2248-13	7,7	2,5	56,3	17,2	6,9	0,9	8,1	0,5
pKR2248-7	7,4	2,7	55,7	16,6	7,5	0,9	8,7	0,6
pKR2248-14	7,9	2,6	54,9	17,0	8,3	0,9	7,8	0,6
pKR2248-8	7,9	2,9	53,3	18,1	7,2	0,9	9,2	0,6
pKR2248-9	7,4	2,6	51,9	18,3	8,3	1,1	9,7	0,8
pKR2248-10	7,6	3,0	48,4	20,4	7,9	1,1	10,8	0,7
pKR2248-16	9,1	2,6	46,1	22,4	8,9	1,0	9,1	0,7
pKR2248-5	8,4	2,5	46,2	22,4	8,6	1,0	10,3	0,7
pKR2249-10	7,3	2,5	67,3	16,0	1,6	0,7	4,4	0,1
pKR2249-6	8,3	2,8	64,0	17,7	3,0	0,6	3,3	0,2
pKR2249-12	6,8	2,8	63,5	16,1	3,0	0,9	6,6	0,3
pKR2249-2	8,4	3,0	59,4	19,8	2,3	0,7	6,2	0,2
pKR2249-1	8,0	2,6	56,2	20,1	5,1	0,7	6,8	0,4
pKR2249-4	7,9	2,8	55,5	19,8	5,6	0,8	7,2	0,5
pKR2249-7	7,9	2,7	52,0	22,0	5,5	0,8	8,5	0,6
pKR2249-3	7,9	2,7	47,8	24,6	6,0	0,9	9,6	0,6
pKR2249-11	7,1	2,9	45,4	24,4	6,0	1,1	12,4	0,7
pKR2249-8	9,2	2,6	43,7	28,1	6,5	0,8	8,5	0,6
pKR2249-9	9,2	2,5	42,9	31,8	4,0	0,7	8,6	0,5
pKR2249-16	8,7	3,0	42,4	29,8	4,1	0,7	10,8	0,6
pKR2249-5	8,2	2,7	39,4	30,5	5,7	0,9	11,9	0,7
pKR2249-14	9,2	3,0	32,3	29,3	11,7	1,1	12,4	1,1
pKR2249-15	8,6	2,6	28,3	36,2	7,3	1,1	14,7	1,1
pKR2249-13	8,0	2,9	16,9	29,9	18,4	1,8	20,1	2,0
pKR2250-1	6,8	2,6	72,2	9,8	2,9	0,7	4,8	0,1
pKR2250-11	7,0	2,7	71,6	9,7	3,4	0,7	4,6	0,2

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2250-12	7,1	2,9	70,9	10,0	3,4	0,8	4,8	0,2
pKR2250-15	7,3	2,8	69,7	10,5	3,3	0,8	5,2	0,2
pKR2250-16	7,1	3,0	69,0	11,6	3,2	0,9	5,1	0,2
pKR2250-2	7,8	2,7	66,0	13,5	3,8	0,8	5,1	0,2
pKR2250-4	7,7	3,1	63,1	12,9	5,4	0,9	6,5	0,4
pKR2250-8	7,9	2,8	62,2	14,3	6,2	0,6	5,6	0,4
pKR2250-9	7,2	2,7	60,7	14,5	5,6	0,9	7,9	0,5
pKR2250-14	7,4	3,0	60,5	14,0	6,1	1,0	7,4	0,5
pKR2250-7	7,0	3,0	60,0	14,4	5,9	1,0	8,3	0,5
pKR2250-3	7,0	2,6	59,7	14,7	6,1	1,0	8,2	0,6
pKR2250-5	7,5	2,6	57,1	16,8	6,3	1,0	8,2	0,6
pKR2250-10	9,3	2,7	51,9	19,7	7,9	0,7	7,3	0,5
pKR2250-13	6,9	2,8	50,7	18,2	8,4	1,0	11,1	0,8
pKR2250-6	8,2	2,7	48,7	20,1	8,0	1,1	10,4	0,7
pKR2251-3	6,9	2,2	71,9	12,2	2,2	0,6	3,8	0,1
pKR2251-1	7,0	2,6	67,3	14,5	2,4	0,7	5,2	0,2
pKR2251-11	6,6	2,6	67,3	13,6	2,7	0,7	6,3	0,2
pKR2251-4	7,5	2,7	66,8	14,1	2,4	0,6	5,6	0,2
pKR2251-12	7,7	3,2	62,8	16,0	2,3	0,8	7,1	0,2
pKR2251-5	7,0	2,4	59,4	18,0	3,8	0,7	8,4	0,4
pKR2251-9	7,3	2,7	57,3	17,6	5,3	0,9	8,4	0,5
pKR2251-17	7,8	2,7	55,8	18,6	5,3	0,8	8,5	0,5
pKR2251-14	7,3	2,7	55,5	19,1	4,7	0,9	9,3	0,5
pKR2251-10	7,9	3,0	54,4	18,6	6,3	0,9	8,5	0,6
pKR2251-18	7,8	3,2	53,7	19,8	4,4	0,9	9,8	0,5
pKR2251-13	7,5	2,6	52,0	20,2	6,0	0,9	10,2	0,6
pKR2251-15	7,2	2,9	51,1	21,3	4,9	1,0	11,1	0,5
pKR2251-8	7,8	2,9	49,8	20,7	7,0	1,1	10,0	0,7
pKR2251-16	7,8	3,0	49,1	20,5	7,6	1,1	10,2	0,7
pKR2251-7	7,2	2,9	47,1	22,8	6,5	1,0	11,9	0,7
pKR2251-2	8,1	2,8	45,1	24,2	6,8	0,8	11,4	0,7
pKR2251-6	7,7	3,0	38,9	27,9	6,2	1,1	14,4	0,8

De la Tabla 40, los eventos que expresan amiARN triples de fad2/fad3/fae1 funcionan para suprimir fad2, fad3 y fae1 y aumentan el contenido 18:1 a un porcentaje tan alto como 72%, en semillas T2 a granel, en comparación con 14.0% para la semilla de tipo salvaje, con una disminución en contenido 18:3 a un porcentaje tan bajo como 2%, en comparación con 21.6% para la semilla de tipo salvaje y una disminución en 20:1 a un porcentaje tan bajo como 4% en comparación con 15.8% en la semilla de tipo salvaje. Además, el aumento en 18:1 fue mayor que en eventos que expresan un amiARN doble de fad2/fad3 donde el 18:1 más alto obtenido fue 60.1% en las semillas T2. También, la disminución en 18:3 fue similar al más bajo 18:3 en los eventos de amiARN doble de fad2/fad3 o de amiARN solo de fad3. Además, la disminución en 20:1 a 4% es menor que considerablemente menor que el observado en el mejor evento de amiARN doble de fad2/fad3 doble (donde 20:1 había aumentado de hecho a 20.6%).

5

ES 2 635 115 T3

Tabla 41: Perfiles de ácidos grasos de lípido de muestras de semilla T2 a granel para eventos transformados con pKR2333, pKR2334, pKR2335 o pKR2336 que expresan un amiARN doble que se dirige a fad2 y fad3 y otro amiARN se dirige a fael.

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
Col-0	10,2	2,7	14,0	32,4	21,6	1,3	15,8	1,9
pKR2333-1	8,1	3,0	68,3	12,5	4,4	0,6	3,0	0,0
pKR2333-13	9,9	4,6	57,7	14,7	5,9	0,9	5,7	0,6
pKR2333-11	9,1	4,2	57,6	15,2	6,2	0,9	6,7	0,0
pKR2333-18	8,5	3,6	16,9	31,4	18,0	1,8	17,7	2,0
pKR2333-12	9,2	3,7	16,8	32,0	18,3	1,6	16,5	1,9
pKR2333-7	8,3	3,4	16,5	32,4	18,2	1,8	17,5	1,9
pKR2333-5	9,7	4,4	16,3	31,7	17,5	1,7	16,9	1,9
pKR2333-2	9,0	3,2	16,4	32,3	19,0	1,6	16,6	1,9
pKR2333-16	8,4	3,5	16,2	31,3	19,2	1,9	17,4	2,1
pKR2333-6	9,0	3,7	16,2	31,6	18,5	1,6	17,5	2,0
pKR2333-15	9,0	3,6	16,1	32,0	18,2	1,6	17,6	1,9
pKR2333-8	9,6	3,9	16,0	32,5	18,6	1,7	15,9	1,9
pKR2333-3	8,7	3,3	16,0	33,1	18,7	1,7	16,7	1,9
pKR2333-14	9,1	3,3	16,0	32,0	19,2	1,4	16,9	2,0
pKR2333-4	8,8	3,2	15,9	32,6	19,1	1,6	16,9	1,9
pKR2333-10	9,5	3,9	15,9	32,0	18,7	1,7	16,2	2,0
pKR2333-17	9,5	4,4	15,2	31,4	18,0	2,0	17,5	2,1
pKR2333-9	9,6	4,0	14,5	32,3	19,2	2,0	16,5	1,9
pKR2334-13	8,9	3,9	52,0	16,6	7,6	1,1	9,1	0,8
pKR2334-9	0,0	0,0	44,2	55,8	0,0	0,0	0,0	0,0
pKR2334-14	8,3	3,3	17,9	31,2	17,4	1,7	18,2	2,0
pKR2334-10	7,9	3,6	17,9	30,9	16,1	2,1	19,5	1,9
pKR2334-15	8,1	3,7	17,1	31,2	17,2	2,0	19,0	1,8
pKR2334-4	8,3	3,0	16,4	32,2	18,9	1,6	17,7	1,9
pKR2334-6	8,7	3,6	16,4	31,8	18,6	1,8	17,2	2,0
pKR2334-3	8,9	3,9	16,2	32,2	17,7	1,8	17,4	1,9
pKR2334-12	8,6	3,8	16,3	31,0	18,0	2,1	18,2	2,0
pKR2334-16	8,5	3,4	16,0	31,5	18,7	1,7	18,2	2,0
pKR2334-18	8,5	3,5	16,1	31,1	18,7	1,8	18,4	2,0
pKR2334-8	9,2	3,7	15,9	31,9	18,6	1,6	17,1	1,9
pKR2334-1	9,0	3,6	15,8	32,8	18,4	1,9	16,5	1,9
pKR2334-11	8,6	3,8	15,7	31,6	17,9	2,0	18,5	1,9
pKR2334-17	9,3	4,0	15,5	31,8	17,3	1,8	18,4	1,9

ES 2 635 115 T3

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2334-7	9,6	4,4	15,2	31,0	18,2	2,0	17,7	1,9
pKR2334-2	8,7	3,3	15,1	32,4	18,8	1,7	18,1	2,0
pKR2334-5	9,1	3,5	15,0	32,9	18,8	1,7	16,9	1,9
pKR2335-6	8,4	3,0	64,8	19,1	2,1	0,6	1,9	0,0
pKR2335-9	8,7	3,6	59,6	22,3	1,7	0,7	3,2	0,2
pKR2335-2	8,9	3,1	50,9	23,1	6,1	0,9	6,3	0,6
pKR2335-12	8,7	3,5	50,7	23,0	5,6	0,9	7,0	0,6
pKR2335-13	8,5	3,4	50,8	22,8	5,8	0,9	7,2	0,6
pKR2335-15	8,6	3,5	48,0	25,2	6,1	1,0	7,1	0,7
pKR2335-5	9,3	3,6	47,9	23,9	6,5	0,9	7,3	0,7
pKR2335-7	8,8	3,2	47,2	26,2	5,8	0,9	7,3	0,6
pKR2335-1	9,5	4,0	47,0	23,3	6,8	1,0	7,5	0,8
pKR2335-10	8,4	3,6	45,9	26,0	6,7	1,1	7,7	0,7
pKR2335-3	9,5	3,7	45,1	29,9	4,6	0,7	5,9	0,6
pKR2335-4	8,6	3,3	44,9	29,8	5,5	0,8	6,4	0,6
pKR2335-14	8,5	3,5	44,9	26,0	6,9	1,1	8,4	0,8
pKR2335-16	8,7	3,5	44,8	25,3	6,8	1,0	8,9	0,8
pKR2335-17	9,3	4,4	43,7	26,2	6,4	1,1	8,2	0,7
pKR2335-8	8,3	3,4	43,7	23,4	9,5	1,1	9,6	1,0
pKR2335-11	8,3	3,4	43,5	28,2	6,7	0,9	8,2	0,7
pKR2336-16	7,5	3,1	64,9	17,8	2,6	0,7	3,2	0,2
pKR2336-6	7,7	2,9	63,7	18,6	2,7	0,6	3,8	0,0
pKR2336-11	7,7	3,1	62,6	18,7	3,3	0,7	3,6	0,2
pKR2336-8	7,0	3,0	60,8	15,7	3,1	0,8	9,2	0,4
pKR2336-9	8,5	3,2	58,0	22,1	2,1	0,7	5,1	0,2
pKR2336-14	8,0	3,5	54,8	20,2	5,7	1,0	6,4	0,5
pKR2336-3	7,8	2,8	52,2	25,1	5,3	0,8	5,6	0,5
pKR2336-2	8,6	3,2	46,2	23,0	8,8	1,1	8,3	0,8
pKR2336-17	8,0	3,2	19,0	32,0	17,0	1,7	17,4	1,7
pKR2336-13	8,1	3,2	18,0	32,3	17,0	1,8	17,8	1,7
pKR2336-5	8,4	3,2	16,3	32,9	18,3	1,7	17,4	1,8
pKR2336-15	8,3	3,3	16,3	32,3	18,1	1,9	18,0	1,8
pKR2336-12	8,2	3,2	16,2	32,4	18,1	1,8	18,2	1,8
pKR2336-7	8,5	3,2	15,6	32,7	18,5	1,8	17,7	1,9
pKR2336-4	9,0	3,3	15,2	33,0	18,6	1,9	17,0	1,9
pKR2336-1	9,3	3,0	15,1	34,4	18,4	1,7	16,3	1,8
pKR2336-10	8,6	3,4	15,2	32,4	18,7	2,1	17,6	1,9

De la Tabla 41, los eventos que expresan amiARN dobles de fad2/fad3 y de fae1 individual funcionan juntos para suprimir fad2, fad3 y fae1 y aumentan el contenido 18:1 a un porcentaje tan alto como 68%, en semillas T2 a granel, en comparación con 14.0% para la semilla de tipo salvaje, con una disminución en contenido 18:3 a un porcentaje tan bajo como 4%, en comparación con 21.6% para la semilla de tipo salvaje y una disminución en 20:1 a un porcentaje tan bajo como 3% en comparación con 15.8% en la semilla de tipo salvaje. Otros eventos tenían 18:1 a 65% con 18:3 a 2% y 20:1 también a 2%. Tal como se describe para la construcción de amiARN triple mostrada en la Tabla 40, estos perfiles de ácidos grasos son mejores que para las construcciones de amiARN doble solas.

Análisis de ácidos grasos de semilla T3 a granel de plantas homocigotas

Todos los eventos T2 para todas las construcciones se colocaron en placas en kanamicina tal como se describe anteriormente y esos eventos donde las plantas T2 resistentes a la kanamicina se segregaban de plantas sensibles a la kanamicina por una relación de 3:1, lo que indica la inserción de una sola copia y muestra que la segregación 3:1 del fenotipo de semilla T2 sola (tal como se describe en la presente) se avanzó para obtener semillas T3 homocigotas exactamente tal como se describe en la presente. El perfil de ácido graso para la semilla T3 de plantas T2 homocigotas también se determinó exactamente tal como se describe en la presente.

Los resultados para perfiles de ácidos grasos para lotes de semillas T3 homocigotas para un evento representativo de cada experimento se presenta en las Tablas 42 a 44 debajo. En cada Tabla, los ácidos grasos se identifican como 16:0 (palmitato), 18:0 (ácido esteárico), 18:1 (ácido oleico), 18:2 (ácido linoleico) y 18:3 (ácido alfa-linolénico), 20:0 (ácido eicosanoico), 20:1 ácido eicosenoico) 20:2 (ácido eicocadienoico) y 20:3 (ácido eicosatrienoico) y los resultados se expresan como un por ciento en peso (% en p.) de ácidos grasos totales. Los perfiles de ácidos grasos están clasificados de más altos 18:1 a más bajos. Un lote de semillas Columbia de tipo salvaje también se analizó y se mostró para su comparación en cada Tabla como col-0.

Tabla 42: Perfiles de ácidos grasos de lípido de muestras de semilla T3 a granel para eventos transformados con pKR2232, pKR2233, pKR2234 o pKR2235 que expresan los amiARN dobles que se dirigen a fad2 y fad3.

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2232-3-9	7,2	3,2	55,4	10,8	2,3	1,3	19,9	0,0
pKR2232-3-17	7,0	3,0	51,4	13,7	3,1	1,2	20,2	0,3
pKR2233-10-1	9,3	2,8	64,7	9,9	2,8	0,0	10,5	0,0
pKR2233-10-11	7,8	3,0	59,1	9,2	2,3	1,0	17,6	0,0
pKR2233-10-9	8,3	2,8	58,8	10,2	2,8	1,0	16,2	0,0
pKR2234-4-13	7,6	3,2	45,5	21,1	1,7	1,4	19,5	0,0
pKR2234-4-2	7,8	3,0	45,4	22,1	1,7	1,2	18,9	0,0
pKR2234-4-5	7,5	3,2	44,3	21,6	2,3	1,4	19,7	0,0
pKR2235-5-9	7,2	3,0	53,6	13,7	1,8	1,2	19,3	0,3
pKR2235-5-3	7,2	2,9	52,4	14,2	1,8	1,2	20,0	0,3
pKR2235-5-7	7,0	2,9	51,4	14,7	1,8	1,2	20,7	0,3

De la Tabla 42, los eventos que expresan amiARN dobles de fad2/fad3 funcionan para suprimir ambos fad2 y fad3 y aumentan el contenido 18:1 a un porcentaje tan alto como 65%, en semillas T3 a granel, en comparación con 14.0% para la semilla de tipo salvaje, con una disminución en contenido 18:3 a 3%, en comparación con 21.6% para la semilla de tipo salvaje.

Tabla 43: Perfiles de ácidos grasos de lípido de muestras de semilla T3 a granel para eventos transformados con pKR2248, pKR2249, pKR2250 o pKR2251 que expresan los amiARN triples que se dirigen a fad2, fad3 y fael.

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
pKR2248-4-2	6,8	3,0	75,3	9,2	1,8	0,7	3,1	0,1
pKR2248-4-11	7,3	3,5	70,5	11,1	2,7	0,8	3,9	0,2
pKR2249-1-18	7,9	3,3	58,4	20,7	2,1	0,8	6,4	0,3
pKR2249-1-12	7,9	3,3	58,2	21,1	2,1	0,8	6,2	0,3
pKR2249-1-6	8,3	3,1	56,6	23,3	2,2	0,7	5,5	0,3
pKR2250-4-6	7,7	2,9	74,5	9,2	2,2	0,6	2,9	0,0
pKR2250-4-10	8,3	2,7	73,6	10,2	2,6	0,0	2,7	0,0
pKR2250-4-15	8,5	2,5	72,5	10,6	3,1	0,0	2,7	0,0
pKR2251-17-11	8,6	2,6	65,7	15,9	2,4	0,6	4,2	0,0
pKR2251-17-16	8,4	2,6	65,5	16,0	2,2	0,5	4,7	0,0
pKR2251-17-12	8,5	2,7	65,0	16,4	2,2	0,5	4,7	0,0

De la Tabla 43, los eventos que expresan amiARN triples de fad2/fad3/fae1 funcionan para suprimir fad2, fad3 y fae1 y aumentan el contenido 18:1 a un porcentaje tan alto como 75%, en semillas T3 a granel, en comparación con 14.0% para la semilla de tipo salvaje, con una disminución en contenido 18:3 a 2%, en comparación con 21.6% para la semilla de tipo salvaje y una disminución en 20:1 a 3% en comparación con 15.8% en la semilla de tipo salvaje.

5

Tabla 44: Perfiles de ácidos grasos de lípido de muestras de semilla T3 a granel para eventos transformados con pKR2333, pKR2334, pKR2335 o pKR2336 que expresan un amiARN doble que se dirige a fad2 y fad3 y otro amiARN se dirige a fael.

Evento	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	20:2
2333-13-7	7,6	2,4	74,3	9,3	2,9	0,7	2,8	0,0
2333-13-9	7,6	2,8	74,1	10,6	2,3	0,6	2,0	0,0
2333-13-13	7,8	2,6	74,0	11,0	2,6	0,5	1,6	0,0
2334-13-22	8,1	2,3	73,5	9,9	3,0	0,5	2,7	0,0
2334-13-18	7,9	2,4	72,9	11,7	2,9	0,5	1,7	0,0
2334-13-7	8,2	2,8	71,1	10,5	3,0	0,5	4,0	0,0
2335-12-15	8,1	2,5	64,3	19,8	2,2	0,5	2,6	0,0
2335-12-7	8,1	2,4	64,2	20,1	2,1	0,5	2,5	0,0
2335-12-12	8,4	2,6	63,7	19,5	2,0	0,6	3,1	0,0
2336-3-10	7,2	2,4	66,7	19,4	2,1	0,5	1,7	0,0
2336-3-14	8,4	2,5	63,0	21,1	2,2	0,5	2,1	0,0
2336-3-1	8,1	2,8	62,4	21,3	2,1	0,5	2,8	0,0

De la Tabla 44, los eventos que expresan amiARN dobles de fad2/fad3 y fae1 individual funcionan juntos para suprimir fad2, fad3 y fae1 y aumentan el contenido 18:1 a un porcentaje tan alto como 74%, en semillas T3 a granel, en comparación con 14.0% para la semilla de tipo salvaje, con una disminución en contenido 18:3 a 2%, en comparación con 21.6% para la semilla de tipo salvaje y una disminución en 20:1 a 2% en comparación con 15.8% en la semilla de tipo salvaje.

5

REIVINDICACIONES

1. Una secuencia de ácido nucleico aislado que comprende una secuencia que codifica al menos un precursor de microARN artificial, unido de forma operativa a al menos una secuencia reguladora, donde dicha secuencia que codifica al menos un precursor de microARN artificial es capaz de formar un ARN de doble cadena u horquilla, donde el al menos un precursor de amiARN comprende al menos un precursor de miARN modificado en el que la secuencia de miARN y su secuencia complementaria son reemplazadas por al menos una secuencia de amiARN y al menos una secuencia STAR, donde la expresión de al menos el gen biosintético de ácido graso de planta fad3 está inhibida y el precursor de microARN artificial comprende una secuencia de nucleótidos según se establece en la SEQ ID NO:130.
2. La secuencia de ácido nucleico aislado tal como se reivindica en la reivindicación 1, que comprende una secuencia que codifica dos o más precursores de microARN artificial, unidos de forma operativa a dicha al menos una secuencia reguladora, donde dichos dos o más precursores de microARN artificial pueden estar en las mismas unidades transcripcionales o separadas, además donde dichas secuencias que codifican dos o más precursores de microARN artificial son capaces de formar un ARN de doble cadena u horquilla, donde los dos o más precursores de amiARN comprenden uno o más precursores de miARN modificado en el que la o las secuencias de miARN y su secuencia o secuencias complementarias son reemplazadas por dos o más secuencias de amiARN y dos o más secuencias STAR, y además donde la expresión de al menos dos o más genes biosintéticos de ácido graso vegetal seleccionados del grupo que consiste en: fad2-1, fad2-2, fad3, fatB, sad, y fael están inhibidos, y al menos fad3 está inhibido.
3. La secuencia de ácido nucleico aislado tal como se reivindica en la reivindicación 2 donde la expresión de al menos fad3 y fad2 está inhibida.
4. La secuencia de ácido nucleico aislado tal como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde la o las secuencias de amiARN comprendidas en dicho precursor de miARN artificial, que comprende una secuencia de nucleótidos tal como se establece en la SEQ ID NO: 130, comprende la SEQ ID NO: 24 y/o la o las secuencias de amiARN comprendidas en un precursor de miARN artificial para fad2-1, fad2-2, fatB, sad y fael comprende al menos una que se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 21, 22, 23, 25, 80, 83, 86, 95, 98 y 101.
5. La secuencia de ácido nucleico aislado tal como se reivindica en la reivindicación 2 o 3, donde dicha secuencia precursora de microARN artificial para dicho fad2-1, fad2-2, fatB, sad o fael es al menos uno que se selecciona del grupo que consiste en SEQ ID NO: 124, 125, 126, 127, 128, 129, 131, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 146, 147, 148, 149, 150 y 151.
6. Una construcción recombinante que comprende la secuencia de ácido nucleico aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 unida de forma operativa a al menos una secuencia reguladora.
7. Una célula de planta que comprende la construcción recombinante de la reivindicación 6.
8. La célula de planta tal como se reivindica en la reivindicación 7, donde la célula de planta es una célula de planta dicotiledónea.
9. Un método para reducir la expresión de al menos un gen biosintético de ácido graso vegetal, donde dicho método comprende:
 - (a) transformar una célula de planta con al menos una secuencia de ácido nucleico aislado que comprende una secuencia que codifica al menos un precursor de microARN artificial, unido de forma operativa a al menos una secuencia reguladora donde el al menos un precursor de microARN artificial comprende una secuencia de nucleótidos tal como se establece en la SEQ ID NO:130;
 - (b) dicha al menos una secuencia que codifica dos o más precursores de microARN artificial se transcribe para que se produzca al menos un producto de transcripción que comprende dichos dos o más precursores de miARN artificial;
 - (c) dicho producto de transcripción se procesa para que al menos un miARN maduro de alrededor de 21 a 22 nts de longitud se escinda de dicho precursor de miARN artificial, y
 - (d) la expresión de al menos el gen biosintético de ácido graso vegetal fad3 está reducida.
10. El método tal como se reivindica en la reivindicación 9, donde la célula de planta es una célula de planta dicotiledónea.
11. El método tal como se reivindica en la reivindicación 9 o 10 para reducir la expresión de dos o más genes biosintéticos de ácido graso vegetal, donde dicho método comprende:
 - (a) transformar dicha célula de planta con al menos una secuencia de ácido nucleico aislado que comprende una

secuencia que codifica dos o más precursores de microARN artificial, donde dichos dos o más precursores de microARN artificial pueden estar en las mismas unidades transcripcionales o separadas, unidos de forma operativa a al menos una secuencia reguladora;

5 (b) dicha al menos una secuencia que codifica dos o más precursores de microARN artificial se transcribe para que se produzca al menos un producto de transcripción que comprende dichos dos o más precursores de miARN artificial;

(c) dicho al menos un producto de transcripción se procesa para que al menos dos o más miARN de alrededor de 21 a 22 nts de longitud se escindan de dichos precursores de miARN artificial, y

10 (d) la expresión de dos o más genes biosintéticos de ácido graso vegetal que se selecciona del grupo que consiste en: fad2-1, fad2-2, fad3, fatB, sad y fael está reducida, y al menos la expresión de fad3 está reducida.

12. El método tal como se reivindica en la reivindicación 11 donde la expresión de al menos fad3 y fad2 está reducida.

15 13. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12, donde la o las secuencias de amiARN comprendidas en dicho precursor de miARN artificial, que comprende una secuencia de nucleótidos tal como se establece en la SEQ ID NO:130, comprende la SEQ ID NO: 24 y/o la o las secuencias de amiARN comprendidas en un precursor de miARN artificial para fad2-1, fad2-2, fatB, sad y fael comprende o comprenden al menos una que se selecciona del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 21, 22, 23, 25, 80, 83, 86, 95, 98 y 101.

14. Una semilla o planta transgénica que comprende la secuencia de ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1-5.

20 15. Un método para disminuir el contenido de ácido α -linolénico en semillas de soja que comprende las etapas (a) a (d) tal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 9 a 13 donde dicha célula de planta es soja, donde el contenido de ácido α -linolénico está disminuido en comparación con la semilla de soja de tipo salvaje.