(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 668 656**

(51) Int. Cl.:

C12N 15/113 (2010.01)
C12N 15/53 (2006.01)
A01H 5/10 (2008.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.12.2011 PCT/US2011/064143**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **21.06.2012 WO12082548**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.12.2011 E 11849098 (6)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.03.2018 EP 2651209**

(54) Título: **Evento SYHT0H2 de la soja y composiciones y métodos para su detección**

(30) Prioridad:

15.12.2010 US 423131 P
25.03.2011 US 201161467621 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.05.2018

(73) Titular/es:

SYNGENTA PARTICIPATIONS AG (100.0%)
Schwarzwaldallee 215
4058 Basel, CH

(72) Inventor/es:

HIPSKIND, JOHN;
BURGIN, KRISTINA;
JAIN, RAKESH;
TERPSTRA, KAROLYN;
SIGAREVA, MARINA;
DEFRAMOND, ANNICK;
BREITINGER, BECKY;
KRAMER, VANCE y
GU, WEINING

(74) Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 668 656 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

Evento SYHT0H2 de la soja y composiciones y métodos para su detección

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere en general a plantas transgénicas con tolerancia a los herbicidas. En particular, la presente invención proporciona plantas de soja que incluyen el evento de transformación SYHT0H2, que confiere resistencia a los herbicidas inhibidores de HPPD y al glufosinato. También se proporcionan métodos para detectar el evento de transformación SYHT0H2 y métodos para utilizar las plantas y partes de plantas divulgadas.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

Se sabe que la expresión de los genes heterólogos en plantas es influenciada por su ubicación en el genoma vegetal, quizá debido a la estructura de la cromatina o a la proximidad de los elementos de regulación transcripcional cercanos al sitio de integración. Al mismo tiempo, la presencia del transgén en diferentes ubicaciones en el genoma afecta el fenotipo general de la planta de diferentes formas. Por esta razón, a menudo es necesario evaluar un gran número de eventos con el fin de identificar un evento caracterizado por la expresión óptima de un gen de interés introducido. Por ejemplo, se ha observado en plantas y en otros organismos que puede haber una amplia variación de los niveles de expresión de un gen introducido entre los eventos. Puede haber diferencias en los patrones de expresión espaciales o temporales, por ejemplo, diferencias en la expresión relativa de un transgén en varios tejidos vegetales, que puede no corresponder a los patrones esperados de los elementos de regulación transcripcional presentes en el constructo del gen introducido. También se ha observado que la inserción del transgén puede afectar la expresión del gen endógeno. Por estas razones, es común producir cientos a miles de eventos diferentes y evaluar dichos eventos en busca de un único evento que tenga los niveles y patrones de expresión del transgén deseados a efectos comerciales. Un evento que tiene los niveles o patrones de expresión del transgén deseados es útil para la introgresión del transgén en otros contextos genéticos por el cruzamiento exogámico sexual utilizando métodos de reproducción convencionales. La progenie de dichas cruzas mantiene las características de expresión del transgén del transformante original. Esta estrategia se utiliza para asegurar una expresión del gen confiable en varias variedades que se adaptan bien a las condiciones locales de crecimiento.

Sería ventajoso poder detectar la presencia de un evento particular con el fin de determinar si la progenie de un cruce sexual contiene un transgén de interés. Además, un método para detectar un evento particular sería útil para cumplir con las disposiciones que exigen la aprobación previa a la comercialización y el etiquetado de los alimentos derivados de plantas de cultivo recombinantes, para utilizar en el monitoreo ambiental, para monitorear rasgos en cultivos en el campo, monitorear productos derivados de una cosecha del cultivo y/o para utilizar con el fin de asegurar el cumplimiento de las partes sujetas a condiciones reguladoras o contractuales. Pueden utilizarse métodos y composiciones que permiten la rápida identificación de eventos en plantas que muestran tolerancia a los herbicidas para protección del cultivo y gestión de la maleza, por ejemplo, para reducir el número de aplicaciones de herbicida necesarias para controlar malezas en un campo, para reducir la cantidad de herbicida necesaria para controlar malezas en un campo, para reducir la cantidad de labranza necesaria para producir un cultivo y/o para desarrollar programas que retrasan o evitan la aparición de malezas resistentes a los herbicidas. Existe una necesidad continua de métodos y composiciones para protección de los cultivos y gestión de la maleza que permita el uso objetivo de combinaciones de herbicidas particulares y para la detección eficiente de dicho evento.

Para satisfacer esta necesidad, la presente invención proporciona plantas de soja que incluyen el evento de transformación SYHT0H2, que confiere resistencia a los herbicidas inhibidores de HPPD y al glufosinato. También se proporcionan composiciones y métodos para detectar el evento de transformación SYHT0H2.

COMPENDIO DE LA INVENCIÓN

La presente invención proporciona una planta de soja o parte de esta, en donde la planta o parte de la planta comprende la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2 y produce un amplicón diagnóstico del evento SYHT0H2. También se proporcionan productos básicos de soja producidos a partir de la planta o parte de la planta de soja.

La presente invención proporciona además ácidos nucleicos aislados que son diagnósticos del evento SYHT0H2 de la soja, por ejemplo, cualquiera de las SEQ ID NOs: 1-6 y 9-10 o fragmentos diagnósticos de estas.

Se proporcionan además kits para identificar el evento SYHT0H2 en una muestra biológica. En un aspecto de la invención, el kit comprende un primer y un segundo cebador, en donde el primer y el segundo cebador amplifican un polinucleótido que comprende una región específica de SYHT0H2. En otro aspecto de la invención, el kit comprende al menos una sonda de ácido nucleico que se hibrida en condiciones rigurosas con una región específica de SYHT0H2.

Se proporcionan además métodos de identificación del evento SYHT0H2 en una muestra. En un aspecto de la invención, el método comprende las etapas de (a) poner en contacto la muestra con un primer y un segundo cebador; y (b) amplificar un ácido nucleico que comprende una región específica de SYHT0H2. En otro aspecto de la invención, el método comprende (a) poner en contacto la muestra con al menos una sonda de ácido nucleico que se hibrida en condiciones rigurosas con una región específica de SYHT0H2; y (b) detectar la hibridación de al menos una sonda de ácido nucleico con la región específica de SYHT0H2.

Se divulgan además métodos de producción de una planta de soja resistente a un inhibidor de HPPD y/o glufosinato que comprende introducir en el genoma de la planta de soja el evento SYHT0H2. También se divulgan métodos de producción de un producto básico de soja utilizando dichas plantas.

También se divulgan adicionalmente métodos para controlar malezas en una ubicación que comprende plantas de soja y malezas, en donde las plantas de soja comprenden el evento SYHT0H2 y en donde el método comprende aplicar a la ubicación una cantidad de control de malezas de una composición herbicida que comprende uno o más inhibidores de HPPD.

También se proporcionan adicionalmente métodos de mejora del campo de soja utilizando el evento SYHT0H2.

También se divulgan adicionalmente métodos de control de plantas de cultivo con SYHT0H2 voluntarias en una ubicación en donde el método comprende aplicar a la ubicación uno o más herbicidas efectivos en plantas de soja y que tiene un modo de acción que no es la inhibición de HPPD.

También se divulgan adicionalmente métodos de control de eventos transgénicos voluntarios en una ubicación que comprende plantas de cultivo con SYHT0H2 en donde los eventos voluntarios comprenden la resistencia a uno o más herbicidas pero no comprenden la resistencia a inhibidores de HPPD en donde el método comprende aplicar a la ubicación una cantidad de control de una composición herbicida que comprende uno o más inhibidores de HPPD.

También se divulgan adicionalmente métodos para aplicar mezclas herbicidas en una ubicación, en donde la mezcla herbicida comprende un inhibidor de HPPD y al menos un químico adicional que puede no ser tolerado por SYHT0H2 a efectos del control de plagas (malezas, enfermedades, insectos, nematodos), en donde la presencia del evento SYHT0H2 permite la aplicación de esta mezcla ya sea preplantación o preemergencia a través de la protección contra la actividad residual de HPPD. También se divulga adicionalmente un sitio objetivo cromosómico de soja para la inserción de un ácido nucleico heterólogo, que corresponde al sitio de inserción del evento SYHT0H2. También se proporcionan plantas, partes de plantas de soja y productos básicos de soja que comprenden un ácido nucleico heterólogo en un sitio cromosómico del evento SYHT0H2 y métodos de producción de estos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 es una representación del vector binario 15954 que contiene un gen HPPD de *Avena* optimizado por un codón de soja.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS SECUENCIAS EN EL LISTADO DE SECUENCIAS

Tabla 1

SEQ ID NO.	Descripción
1	Unión BL2 de 20 pb (flanqueo de 10 pb/inserto de 10 pb)
2	Unión BL1 de 20 pb (inserto de 10 pb/flanqueo de 10 pb)
3	Unión BL2 de 40 pb (flanqueo de 20 pb/inserto de 20 pb)
4	Unión BL1 de 40 pb (inserto de 20 pb/flanqueo de 20 pb)
5	Unión BL2 de 60 pb (flanqueo de 30 pb/inserto de 30 pb)
6	Unión BL1 de 60 pb (inserto de 30 pb/flanqueo de 30 pb)
7	Secuencia genómica de flanqueo BL2 (99 pb)
8	Secuencia genómica de flanqueo BL1 (462 pb)
9	Inserto completo
10	Inserto más secuencia genómica de flanqueo
13, 16	Sondas utilizadas para el ensayo TAQMAN®
11-12, 14-15, 17-21	Secuencias de cebador utilizadas en ensayos de amplificación
22-23	Productos de amplificación del ensayo TAQMAN®
24	Gm08: 9905210-9905426
25-28	Secuencias de cebador utilizadas para la secuenciación

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

Se proporcionan composiciones y métodos relacionados con plantas de soja tolerantes a los inhibidores de HPPD transgénico. Las composiciones de la invención incluyen plantas y partes de plantas de soja que comprenden el

evento SYHT0H2, productos básicos alimenticios para humanos y animales derivados de estos y reactivos para detectarlos. Se generó una planta de soja que comprende el evento SYHT0H2 por medio de la inserción de un gen HPPD mutante derivado de *Avena* y un gen de fosfinotricina acetil transferasa de *S. viridochromogenes* como se describe en el Ejemplo 1.

Como se utiliza en la presente, la abreviación “HPPD” significa hidroxifenil-piruvato-dioxigenasa. Los polinucleótidos de HPPD codifican polipéptidos que tienen la actividad enzimática de una enzima hidroxifenil-piruvato-dioxigenasa.

Los polinucleótidos que confieren tolerancia al inhibidor de HPPD se insertan en una posición caracterizada en el genoma de soja y de esta forma producen el evento SYHT0H2 de la soja. Ver el Ejemplo 3. Un evento SYHT0H2 que aloja una planta de soja comprende uniones genómicas/de transgén que tienen al menos la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 1 o 2. La caracterización del sitio de inserción genómica del evento SYHT0H2 proporciona una eficiencia de reproducción mejorada y permite el uso de marcadores moleculares para rastrear el inserto del transgén en las poblaciones de reproducción y la progenie de estas. Ver el Ejemplo 4. Se proporcionan en la presente varios métodos y composiciones para la identificación, detección y uso del evento SYHT0H2 de la soja. Ver, por ejemplo, el Ejemplo 2. Como se utiliza en la presente, la descripción “específico de SYHT0H2”, como se utiliza para describir un ácido nucleico o secuencia de nucleótidos, se refiere a una cualidad que consiste en identificar discriminadamente el evento SYHT0H2 en plantas, material vegetal o productos tales como, a modo no taxativo, productos alimenticios para humanos o para animales (frescos o procesados) que contienen material vegetal o derivan de este.

Las composiciones también incluyen semillas depositadas como el Depósito de la American Type Culture Collection (ATCC) Nro. PTA-11226 y plantas, células vegetales y semillas derivadas de estas. El solicitante realizó un depósito de al menos 2500 semillas del evento SYHT0H2 de la soja en la ATCC, Manassas, VA 20110-2209 Estados Unidos, el 21 de julio de 2010, y a los depósitos se les asignó el Nro. de Depósito de la ATCC PTA-11226. Estos depósitos se mantendrán en virtud de los términos del Tratado de Budapest sobre el Reconocimiento Internacional del Depósito de Microorganismos a efectos del Procedimiento de Patentes.

Como se utiliza en la presente, el término “soja” significa *Glycine max* e incluye todas las variedades vegetales que puedan cruzarse con la soja. Como se utiliza en la presente, el término planta incluye células vegetales, órganos vegetales, protoplastos vegetales, cultivos de tejidos de células vegetales a partir de los cuales pueden regenerarse las plantas, callos vegetales, acúmulos vegetales y células vegetales que están intactas en plantas o partes de plantas tales como embriones, polen, óvulos, semillas, hojas, flores, ramas, frutos, tallos, raíces, puntas de raíces, anteras y similares. Grano significa la semilla madura producida por cultivadores comerciales con fines que no sean el cultivo o la reproducción de las especies. Progenie, variantes y mutantes de las plantas regeneradas se incluyen dentro del alcance de la invención, siempre que estas partes comprendan el evento SYHT0H2.

Composiciones de la invención comprenden también un producto básico, tal como un producto alimenticio para humanos o animales que comprende o deriva de uno o más de los siguientes productos de una planta de soja que comprende el evento SYHT0H2: lecitina, ácidos grasos, glicerol, esterol, aceite comestible, copos de soja desgrasada, comidas de soja incluidas comidas de soja desgrasada y tostada, cuajada de leche de soja, tofu, harina de soja, concentrado de proteína de soja, proteína de soja aislada, proteína vegetal hidrolizada, proteína de soja texturizada y fibra de proteína de soja.

Un “evento” transgénico es producido por la transformación de células vegetales con uno o más constructos de ADN heterólogo, incluidos un casete de expresión de ácido nucleico que comprende un transgén de interés, la regeneración de una población de plantas que resulta de la inserción del transgén en el genoma de la planta y la selección de una planta particular caracterizada por la inserción en una ubicación particular del genoma. Un evento está caracterizado fenotípicamente por la expresión del o los transgenes. A nivel genético, un evento es parte de la conformación genética de una planta. El término “evento” se refiere a la progenie producida por un cruce exogámico sexual entre el transformante y otra variedad que incluye el ADN heterólogo. Incluso después del retrocruzamiento repetido con un progenitor recurrente, el ADN insertado y el ADN de flanqueo del progenitor transformado están presentes en la progenie del cruce en la misma ubicación cromosómica. El término “evento” se refiere a ADN del transformante original que comprende el ADN insertado y la secuencia de flanqueo inmediatamente adyacente al ADN insertado que se esperaría que se transfiera a una progenie que recibe ADN insertado, incluido el transgén de interés, como resultado de un cruce sexual de una línea parental que incluye el ADN insertado (por ejemplo, el transformante original y la progenie resultante de la autofecundación) y una línea parental que no contiene el ADN insertado.

El promedio y la distribución de los niveles de tolerancia o resistencia a los herbicidas de una gama de eventos de transformación vegetal primaria se evalúan de manera normal en base al daño de la planta, los síntomas de blanqueamiento meristemático, etc., en un rango de concentraciones diferentes de cualquier herbicida dado. Estos datos pueden expresarse en términos de, por ejemplo, valores de GR50 derivados de curvas de dosis/respuesta que tienen “dosis” graficadas en el eje de las *x* y “muerte porcentual", "efecto herbicida", “números de plantas verdes emergentes”, etc. graficados en el eje de las *y* donde los valores más altos de GR50 corresponden a niveles más

altos de tolerancia a inhibidores inherente (por ejemplo, valor Ki/ Km_{HPP} más alto) y/o nivel de expresión del polipéptido de HPPD expresado.

Como se utiliza en la presente, “ADN de inserto” se refiere al ADN heterólogo dentro de los casetes de expresión utilizados para transformar el material vegetal mientras que “ADN de flanqueo” puede comprender ADN genómico presente naturalmente en un organismo tal como una planta o ADN ajeno (heterólogo) introducido por medio del proceso de transformación que es extrínseco a la molécula de ADN de inserto original, por ejemplo, fragmentos asociados con el evento de transformación. Una “región de flanqueo” o “secuencia de flanqueo”, como se utilizan en la presente, se refieren a una secuencia de al menos 20, 50, 100, 200, 300, 400, 1000, 1500, 2000, 2500 o 5000 pares de bases o más que se ubican inmediatamente corriente arriba y contiguos a la molécula de ADN de inserto ajeno original o inmediatamente corriente abajo y contiguos a esta. Ejemplos no taxativos de las regiones de flanqueo del evento SYHT0H2 se establecen en las SEQ ID NO: 7 y 8 y variantes y fragmentos de estas.

Los procedimientos de transformación que conducen a la integración aleatoria del ADN ajeno resultarán en transformantes que contienen diferentes regiones de flanqueo características de cada transformante y únicas para cada uno. Cuando el ADN recombinante se introduce en una planta a través del cruzamiento tradicional, sus regiones de flanqueo generalmente no cambiarán. Los transformantes contendrán uniones únicas entre una pieza de ADN de inserto heterólogo y ADN genómico, o dos piezas de ADN genómico o dos piezas de ADN heterólogo. Una “unión” es un punto donde dos fragmentos específicos de ADN se unen. Por ejemplo, existe una unión donde el ADN de inserto se une con el ADN de flanqueo. Existe un punto de unión en un organismo transformado donde dos fragmentos de ADN se unen de manera que se modifique con respecto al que se encuentra en el organismo nativo. Como se utiliza en la presente, “ADN de unión” se refiere a ADN que comprende un punto de unión. Ejemplos no taxativos de ADN de unión del evento SYHT0H2 se indican como las SEQ ID NO: 1-6 y variantes y fragmentos de estas.

Una planta que comprende el evento SYHT0H2 puede desarrollarse primero cruzando sexualmente una primera planta de soja parental cultivada a partir de la planta de soja de SYHT0H2 transgénica y una segunda planta de soja parental que carece del fenotipo de tolerancia a los herbicidas, produciendo así una pluralidad de primeras plantas de progenie; y seleccionando luego una primera planta de progenie que exhibe la tolerancia a los herbicidas deseada; y autofecundando la primera planta de progenie, produciendo así una pluralidad de segundas plantas de progenie; y seleccionando luego de las segundas plantas de progenie que exhiben la tolerancia a los herbicidas deseada. Estas etapas pueden incluir también el retrocruzamiento de la planta de progenie tolerante a los herbicidas con la segunda planta de soja parental o una tercera planta de soja parental, produciendo así una planta de soja que exhibe la tolerancia a los herbicidas deseada. También se reconoce que no es necesario un ensayo de progenie en busca de fenotipo. Varios métodos y composiciones, como se divulga en cualquier otra parte en la presente, pueden utilizarse para detectar y/o identificar el evento SYHT0H2.

Se comprende que dos plantas transgénicas diferentes pueden cruzarse sexualmente para producir descendencia que contiene dos genes exógenos agregados independientemente segregados. La autofecundación de la progenie apropiada puede producir plantas que son homocigotas para ambos genes agregados, exógenos. Se divulga el retrocruzamiento con una planta parental y el cruzamiento exogámico con una planta no transgénica, como lo es la propagación vegetativa. Las descripciones de otros métodos de reproducción que se utilizan comúnmente para diferentes rasgos y cultivos pueden encontrarse en una de varias referencias, por ejemplo, Fehr, en Breeding Methods for Cultivar Development, 1987, Wilcos, J. (ed.), American Society of Agronomy, Madison, WI.

El término “germoplasma” se refiere a un individuo, un grupo de individuos o un clon que representa un genotipo, variedad, especie o cultivo o al material genético de este.

Una “línea” o “cepa” es un grupo de individuos de parentesco idéntico que son generalmente consanguíneos hasta cierto punto y que son generalmente isogénicos o casi isogénicos.

Las líneas de soja consanguíneas generalmente se desarrollan para su uso en la producción de híbridos de soja y para su uso como germoplasma en poblaciones de reproducción para la creación de líneas de soja consanguíneas distintas y nuevas. Las líneas de soja consanguíneas se utilizan a menudo como objetivos para la introgresión de rasgos nuevos a través de técnicas tradicionales de reproducción y/o introgresión molecular. Las líneas de soja consanguíneas deben ser altamente homogéneas, homocigotas y reproducibles para ser útiles como progenitores de híbridos comerciales. Están disponibles muchos métodos analíticos para determinar la homocigocidad y estabilidad fenotípica de las líneas consanguíneas.

La frase “plantas híbridas” se refiere a plantas que resultan de un cruce entre individuos genéticamente diferentes.

El término “cruzado” o “cruce” en el contexto de esta invención significa la fusión de gametos, por ejemplo, por medio de la polinización para producir progenie (es decir, células, semillas o plantas) cuando se trata de plantas. El término abarca tanto cruces sexuales (la polinización de un planta por otra) y, en el caso de plantas, la autofecundación (autopolinización, es decir, cuando el polen y el óvulo son de la misma planta).

El término “introgresión” se refiere a la transmisión de un alelo deseado de un locus genético de un contexto genético a otro. En un método, los alelos deseados pueden someterse a introgresión a través del cruce sexual entre dos progenitores, en donde al menos uno de los progenitores tiene el alelo deseado en su genoma.

En algunos aspectos de la invención, el polinucleótido que confiere el evento SYHT0H2 se diseña en una pila molecular. En otros aspectos, la pila molecular comprende también al menos un polinucleótido adicional que confiere tolerancia a un tercer herbicida. Por ejemplo, la secuencia puede conferir tolerancia al glifosato y la secuencia puede comprender EPSPS.

En otros aspectos de la invención, el evento SYHT0H2 puede comprender uno o más rasgos de interés adicionales, por ejemplo, apilamiento con cualquier combinación de secuencias de polinucleótidos de interés con el fin de crear plantas con una combinación de rasgos deseada. Un rasgo, como se utiliza en la presente, se refiere al fenotipo derivado de una secuencia o grupo de secuencias particulares. Por ejemplo, los polinucleótidos con tolerancia a herbicidas pueden apilarse con otros polinucleótidos cualquiera que codifican polipéptidos que tienen actividad pesticida y/o insecticida, tales como proteínas tóxicas *Bacillus thuringiensis* (descritas en las Patentes de los Estados Unidos Nros. 5.366.892; 5.747.450; 5.737.514; 5.723.756; y 5.593.881; Geiser *et al.*, *Gene*, 1986 48:109; Lee *et al.*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003, 69:4648-4657 (*Vip3A*); Galitzky *et al.*, *Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallog.*, 2001, 57:1101-1109 (*Cry3Bbl*); y Herman *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, 2004, 52:2726-2734 (*CrylF)*), lectinas (Van Damme *et al.*, *Plant Mol. Biol.*, 1994, 24:825, pentina (descrita en la Patente de los Estados Unidos Nro. 5.981.722) y similares. Las combinaciones generadas pueden incluir múltiples copias de cualquiera de los polinucleótidos de interés. Estas combinaciones también pueden generarse a través de pilas de reproducción con eventos existentes o nuevos que comprenden estos genes. Ejemplos de eventos existentes que pueden utilizarse en una pila de reproducción incluyen, a modo no taxativo MON87701 – resistencia al lepidopterán.

En algunos aspectos de la invención, el evento SYHT0H2 puede apilarse con otros rasgos de tolerancia a los herbicidas para crear una planta transgénica de la invención con propiedades adicionalmente mejoradas. Por ejemplo, los polinucleótidos que codifican un polipéptido de HPPD mutante o variante de este que retiene la actividad enzimática de HPPD pueden apilarse con cualquier otro polinucleótido que codifica polipéptidos que confieren un rasgo deseable, incluyendo, a modo no taxativo, resistencia a enfermedades, insectos y herbicidas, tolerancia al calor y la sequía, menos tiempo hasta madurez del cultivo, mejor procesamiento industrial, tal como para la conversión de almidón o biomasa en azúcares fermentables y mejor calidad agronómica, tal como alto contenido de aceite y alto contenido de proteína.

Polinucleótidos ejemplares que pueden apilarse con polinucleótidos de la invención que codifican un polipéptido de HPPD mutante o variante de este que retiene la actividad enzimática de HPPD incluyen polinucleótidos que codifican polipéptidos que confieren resistencia a plagas/patógenos tales como virus, nematodos, insectos u hongos y similares. Polinucleótidos ejemplares que pueden apilarse con polinucleótidos de la invención incluyen polinucleótidos que codifican: polipéptidos que tienen actividad pesticida y/o insecticida, tales como otras proteínas tóxicas *Bacillus thuringiensis* (descritas en las Patentes de los Estados Unidos Nros. 5.366.892; 5.747.450; 5.737.514; 5.723.756 y 5.593.881; y Geiser *et al.*, *Gene*, 1986, 48:109), lectinas (Van Damme *et al.*, *Plant Mol. Biol.*, 1994, 24:825, pentina (descrita en la Patente de los Estados Unidos Nro. 5.981.722) y similares; rasgos deseables para resistencia a enfermedades o herbicidas (por ejemplo, genes de desintoxicación de fumonisina (Patente de los Estados Unidos Nro. 5.792.931); genes de avirulencia y resistencia a enfermedades (Jones *et al.*, *Science*, 1994, 266:789; Martin *et al.*, *Science*, 1993*,* 262:1432; Mindrinos *et al.*, *Cell*, 1993, 78:1089); mutantes de acetolactato sintasa (ALS) que conducen a una resistencia a los herbicidas tales como las mutaciones S4 y/o Hra ((resistencia a herbicidas incluidos sulfonilureas, imidazolinonas, triazolipirimidinas, tiobenzoatos de pirimidinilo); resistencia al glifosato (por ejemplo, gen 5-enol-pirovil-shikimato-3-fosfato-sintasa (EPSPS), incluidos, a modo no taxativo, aquellos descritos en las Patentes de los Estados Unidos Nros. 4.940.935, 5.188.642, 5.633.435, 6.566.587, 7.674.598 así como todas las solicitudes relacionadas; o el gen de glifosato N-acetiltransferasa (GAT), descrito en Castle *et al.*, *Science*, 2004, 304:1151-1154; y en las Publicaciones de Solicitud de los Estados Unidos Nros. 20070004912, 20050246798 y 20050060767)); resistencia al glufosinato (por ejemplo, BAR; ver por ejemplo, Patente de los Estados Unidos Nro. 5.561.236); resistencia a 2,4-D (por ejemplo, ariloxialcanoato dioxigenasa o AAD-1, AAD-12 o AAD-13), resistencia a HPPD (por ejemplo, HPPD de Pseudomonas) y resistencia a PPO (por ejemplo, fomesafén, acifluorfén-sodio, oxifluorfén, lactofén, flutiacet-metilo, saflufenacil, flumioxazina, flumiclorac-pentilo, carfentrazona-etilo, sulfentrazona); un citocromo P450 o variante de este que confiere resistencia a los herbicidas o tolerancia a, entre otros, herbicidas inhibidores de HPPD, herbicidas inhibidores de PPO y herbicidas inhibidores de ALS (Publicación de la Solicitud de Patente de los Estados Unidos Nro. 20090011936; Patentes de los Estados Unidos Nros. 6.380.465; 6.121.512; 5.349.127; 6.649.814 y 6.300.544; y Publicación Internacional PCT Nro. WO 2007/000077); resistencia a dicamba (por ejemplo, monooxigenasa de dicamba) y rasgos deseables para el procesamiento o productos del proceso tales como alto contenido de aceite (por ejemplo, Patente de los Estados Unidos Nro. 6.232.529); aceites modificados (por ejemplo, genes de desaturasa de ácido graso (Patente de los Estados Unidos Nro. 5.952.544; Publicación Internacional PCT Nro. WO 94/11516)); almidones modificados (por ejemplo, ADPG pirofosforilasas (AGPasa), sintasas de almidón (SS), enzimas de ramificación del almidón (SBE) y enzimas de desramificiación del almidón (SDBE)); y polímeros o bioplásticos (por ejemplo, Patente de los Estados Unidos Nro. 5.602.321; beta-cetotiolasa, polihidroxibutirato sintasa y acetoacetil-CoA reductasa (Schubert *et al.*, *J. Bacteriol.*, 1988, 170:5837-5847) facilitan la expresión de polihidroxialcanoatos (PHAs)).

De esta forma, en un aspecto de la invención, el evento SYHT0H2 se apila con uno o más polinucleótidos que codifican polipéptidos que confieren resistencia o tolerancia a un herbicida, tal como un inhibidor de HPPD, glifosato, 2,4-D, dicamba, o glufosinato.

Otros polinucleótidos con tolerancia a los herbicidas que podrían utilizarse en dichos aspectos de la invención incluyen aquellos que confieren tolerancia a los inhibidores de HPPD por otros genes o modos de acción. Otros rasgos que podrían combinarse con los eventos SYHT0H2 de soja incluyen aquellos derivados de polinucleótidos que confieren a la planta la capacidad de producir un nivel más alto de 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), por ejemplo, como se describe de manera más completa en las Patentes de los Estados Unidos Nros. 6.248.876; 5.627.061; 5.804.425; 5.633.435; 5.145.783; 4.971.908; 5.312.910; 5.188.642; 4.940.835; 5.866.775; 6.225.114; 6.130.366; 5.310.667; 4.535.060; 4.769.061; 5.633.448; 5.510.471; RE 36.449; RE 37.287 y 5.491.288; y Publicaciones Internacionales PCT Nros. WO 97/04103; WO 00/66746; WO 01/66704 y WO 00/66747. Otros rasgos que podrían combinarse con el evento SYHT0H2 incluyen aquellos que confieren tolerancia a sulfonilurea, triazolopirimidinas de imidazolinona y/o tiobenzoatos de pirimidinilo, por ejemplo, como se describe más detalladamente en las Patentes de los Estados Unidos Nros. 5.605.011; 5.013.659; 5.141.870; 5.767.361; 5.731.180; 5.304.732; 4.761.373; 5.331.107; 5.928.937 y 5.378.824; y Publicación Internacional PCT Nro. WO 96/33270.

En algunos aspectos de la invención, el evento SYHT0H2 puede apilarse con, por ejemplo, hidroxifenilpiruvatodioxigenasas que son enzimas que catalizan la reacción en la cual el para-hidroxifenilpiruvato (HPP) se transforma en homogentisato. Las moléculas que inhiben esta enzima y que se unen a la enzima con el fin de inhibir la transformación del HPP en homogentisato son útiles como herbicidas. Los rasgos que confieren tolerancia a dichos herbicidas en plantas se describen en las Patentes de los Estados Unidos Nros. 6.245.968; 6.268.549; y 6.069.115; y la Publicación Internacional PCT Nro. WO 99/23886. Otros ejemplos de rasgos de tolerancia a herbicidas adecuados que podrían apilarse con el evento SYHT0H2 incluyen polinucleótidos de ariloxialcanoato dioxigenasa (que pueden conferir tolerancia a 2,4-D y otros herbicidas de fenoxi auxina así como herbicidas de ariloxifenoxipropionato como se describe, por ejemplo, en las Publicaciones Internacionales PCT Nros. WO2005/107437, WO2007/053482 y WO2008/141154 y la Patente de los Estados Unidos Nro. 7.820.883 y solicitudes y patentes relacionadas), homogentisato solanesiltransferasa (HST) (por ejemplo, como se divulga en la Publicación Internacional PCT Nro. WO 10/029311 y polinucleótidos con tolerancia a dicamba (monooxigenasa) como se describe, por ejemplo, en Herman *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 2005, 280: 24759-24767 y Patente de los Estados Unidos Nro. 7.812.224 y solicitudes y patentes relacionadas.

Otros ejemplos de rasgos de tolerancia a los herbicidas que podrían combinarse con el evento SYHT0H2 incluyen aquellos conferidos por los polinucleótidos que codifican una fosfinotricina acetiltransferasa exógena, como se describe en las Patentes de los Estados Unidos Nros. 5.969.213; 5.489.520; 5.550.318; 5.874.265; 5.919.675; 5.561.236; 5.648.477; 5.646.024; 6.177.616 y 5.879.903. Las plantas que contienen una fosfinotricina acetiltransferasa exógena pueden exhibir mejor tolerancia a los herbicidas de glufosinato, que inhiben la enzima glutamina sintasa. Otros ejemplos de rasgos de tolerancia a herbicidas que podrían combinarse con el evento SYHT0H2 incluyen aquellos conferidos por los polinucleótidos que confieren actividad de oxidasa de protoporfirinógeno (protox) alterada, como se describe en las Patentes de los Estados Unidos Nros. 6.288.306, 6.282.837 y 5.767.373; y Publicación Internacional PCT Nro. WO 01/12825. Las plantas que contienen dichos polinucleótidos pueden exhibir tolerancia mejorada a cualquiera de una variedad de herbicidas que se dirigen a una enzima protox (a la que se hace referencia como “inhibidores de protox”).

Otros ejemplos de rasgos de tolerancia a los herbicidas que podrían combinarse con el evento SYHT0H2 incluyen aquellos que confieren tolerancia a al menos un herbicida en una planta tal como, por ejemplo, una planta de soja o cola de caballo. Las malezas tolerantes a los herbicidas se conocen en la técnica al igual que las plantas cuya tolerancia a los herbicidas particulares varía. Ver, por ejemplo, Green y Williams, “Correlation of Corn (*Zea mays*) Inbred Response to Nicosulfuron and Mesotrione”, afiche presentado en la Reunión Anual de WSSA en Kansas City, Missouri, 9-12 de febrero de 2004; Green (1998) *Weed Technology* 12: 474-477; Green y Ulrich, *Weed Science* 2003, 41:508-516. El o los rasgos responsables de estas tolerancias pueden combinarse por medio de reproducción o por medio de otros métodos con el evento SYHT0H2 para proporcionar una planta de la invención así como métodos de uso de esta.

Los genes descritos anteriormente pueden diseñarse genéticamente en el evento SYHT0H2 o combinarse con el evento SYHT0H2 a través de una pila de reproducción con un evento nuevo o existente que proporciona tolerancia a uno de los genes mencionados anteriormente. Posibles eventos para utilizar en una pila de reproducción incluyen a modo no taxativo: MON89788 – tolerancia al glifosato (Patente de los Estados Unidos Nro. 7.632.985 y solicitudes y patentes relacionadas), MON87708 – tolerancia a la dicamba (Publicación de Solicitud de Patente de los Estados Unidos Nro. US 2011/0067134 y solicitudes y patentes relacionadas), DP-356043-5 – tolerancia al glifosato y ALS (Publicación de Solicitud de Patente de los Estados Unidos Nro. US 2010/0184079 y solicitudes y patentes relacionadas), A2704-12 – tolerancia al glufosinato (Publicación de Solicitud de Patente de los Estados Unidos Nro. US 2008/0320616 y solicitudes y patentes relacionadas), DP-305423-1 – tolerancia a ALS (Publicación de Solicitud de Patente Nro. US 2008/0312082 y solicitudes y patentes relacionadas), A5547-127 – tolerancia al glufosinato (Publicación de Solicitud de Patente de los Estados Unidos Nro. US 2008/0196127 y solicitudes y patentes

relacionadas), DAS-40278-9 – tolerancia al ácido 2,4- diclorofenoxiacético y ariloxifenoxipropionato (Publicaciones Internacionales PCT Nros. WO 2011/022469, WO 2011/022470, WO 2011/022471, y solicitudes y patentes relacionadas), 127 – tolerancia a ALS (Publicaciones Internacionales PCT Nros. WO 2010/080829 y solicitudes y patentes relacionadas), GTS 40-3-2 – tolerancia al glifosato, DAS-68416-4 – tolerancia al ácido 2,4-diclorofenoxiacético y glufosinato, FG72 – tolerancia al glifosato e isoxaflutol, BPS-CV127-9 – tolerancia a ALS y GU262 – tolerancia al glufosinato, SYHT04R – tolerancia a HPPD.

El evento SYHT0H2 puede combinarse con al menos otro rasgo para producir plantas de la presente invención que comprenden también una variedad de combinaciones de rasgos deseados incluidos, a modo no taxativo, rasgos deseables para alimentos para animales tal como un alto contenido de aceite (por ejemplo, Patente de los Estados Unidos Nro. 6.232.529); contenido de aminoácido balanceado (por ejemplo, hordotioninas (Patentes de los Estados Unidos Nros. 5.990.389; 5.885.801; 5.885.802 y 5.703.409; Patente de los Estados Unidos Nro. 5.850.016); lisina alta de cebada (Williamson *et al.*, *Eur. J. Biochem.*, 1987, 165:99-106 y Publicación Internacional PCT Nro. WO 98/20122) y proteínas de metionina alta (Pedersen *et al.*, *J. Biol. Chem.* 1986, 261:6279; Kirihara *et al.*, *Gene*, 1988, 71:359 y Musumura *et al.*, *Plant Mol. Biol.*, 1989, 12:123)); mayor digestibilidad (por ejemplo, proteínas de almacenamiento modificado (Patente de los Estados Unidos Nro. 6.858.778) y tiorredoxinas (Patente de los Estados Unidos Nro. 7.009.087)). Combinaciones de rasgos deseados incluyen LLNC (bajo contenido de ácido linoleico; ver, por ejemplo, Dyer *et al.*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2002, 59:224-230) y OLCH (alto contenido de ácido oleico; ver, por ejemplo, Fernandez-Moya *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, 2005, 53: 5326-5330).

El evento SYHT0H2 puede combinarse con otros rasgos deseables tales como, por ejemplo, genes de detoxificación de fumonisima (Patente de los Estados Unidos Nro. 5.792.931), genes de avirulencia y resistencia a enfermedades (Jones *et al.*, *Science*, 1994, 266:789; Martin *et al.*, *Science*, 1993, 262:1432; Mindrinos *et al.*, *Cell*, 1994, 78:1089) y rasgos deseables para el procesamiento o productos del proceso tales como aceites modificados (por ejemplo, genes de desaturasa de ácido graso (Patente de los Estados Unidos Nro. 5.952.544; Publicación Internacional PCT Nro. WO 94/11516)); almidones modificados (por ejemplo, ADPG pirofosforilasas (AGPasa), sintasas de almidón (SS), enzimas de ramificación del almidón (SBE) y enzimas de desramificación del almidón (SDBE)); y polímeros o bioplásticos (por ejemplo, Patente de los Estados Unidos Nro. 5.602.321; beta-cetotiolasa, polihidroxibutirato sintasa y acetoacetil-CoA reductasa (Schubert *et al.*, *J. Bacteriol.*,, 1988, 170:5837-5847) facilitan la expresión de polihidroxialcanoatos (PHAs)). También podrían combinarse polinucleótidos tolerantes a los herbicidas con polinucleótidos que proporcionan rasgos agronómicos tales como esterilidad masculina (por ejemplo, ver la Patente de los Estados Unidos Nro. 5.583.210), resistencia del tallo, tiempo de florecimiento o rasgos de tecnología de transformación tales como la regulación del ciclo celular o el direccionamiento de los genes (por ejemplo, Publicaciones Internacionales PCT Nros. WO 99/61619, WO 00/17364 y WO 99/25821).

En otro aspecto de la invención, el evento SYHT0H2 puede combinarse con la secuencia Rcgl o una variante biológicamente activa o fragmento de esta. La secuencia Rcgl es un gen de resistencia a la putrefacción del tallo de antracnosa en el maíz. Ver, por ejemplo, las Publicaciones de Solicitud de Patente de los Estados Unidos Nros. 20060225151, 20060223102 y 20060225152.

Las combinaciones apiladas descritas anteriormente pueden crearse por medio de cualquier método, incluida, a modo no taxativo, la reproducción de plantas por medio de cualquier metodología convencional o TopCross o por medio de transformación genética. Si las secuencias se apilan por transformación genética de las plantas, las secuencias de polinucleótidos de interés pueden combinarse en cualquier momento y en cualquier orden. Los rasgos pueden introducirse simultáneamente en un protocolo de cotransformación con los polinucleótidos de interés proporcionados por cualquier combinación de casetes de transformación. Por ejemplo, si se introducirán dos secuencias, las dos secuencias pueden estar contenidas en casetes de transformación separados (trans) o en el mismo casete de trasformación (cis). La expresión de las secuencias puede ser generada por el mismo promotor o por diferentes promotores. En ciertos casos, puede ser deseable introducir un casete de transformación que suprimirá la expresión del polinucleótido de interés. Este puede combinarse con cualquier combinación de otros casetes de supresión o casetes de sobreexpresión para generar la combinación deseada de rasgos en la planta. También se reconoce que las secuencias de polinucleótidos pueden apilarse en una ubicación genómica deseada utilizando un sistema de recombinación de sitio específico. Ver, por ejemplo, las Publicaciones Internacionales PCT Nros. WO 99/25821, WO 99/25854, WO 99/25840, WO 99/25855 y WO 99/25853.

Como se utiliza en la presente, el uso del término “polinucleótido” abarca polinucleótidos que comprenden ribonucleótidos y/o desoxirribonucleótidos, que incluyen tanto moléculas naturales como análogos sintéticos. Los polinucleótidos abarcan todas las formas de secuencias incluidas, a modo no taxativo, las formas de una sola hebra, formas de doble hebra, horquillas, estructuras tipo tallo-lazo y similares.

Una planta con SYHT0H2 comprende un casete de expresión que tiene un gen HPPD mutante y secuencias de regulación 5' y 3' operativamente conectadas con el gen HPPD mutante. “Operativamente conectadas” significa una conexión funcional entre dos o más elementos. Por ejemplo, una conexión operativa entre un polinucleótido de interés y una secuencia de regulación (es decir, un promotor) es un enlace funcional que permite la expresión del polinucleótido de interés. Los elementos operativamente conectados pueden ser contiguos o no contiguos. Cuando se utiliza para hacer referencia a la unión de dos regiones de codificación de proteínas, operativamente conectadas

significa que las regiones de codificación se encuentran en el mismo marco de lectura. El casete puede contener adicionalmente al menos un gen adicional a ser cotransformado en el organismo. Como alternativa, el o los genes adicionales pueden proporcionarse en múltiples casetes de expresión. Dicho casete de expresión cuenta con una pluralidad de sitios de restricción y/o sitios de recombinación para que la inserción del polinucleótido ocurra bajo la regulación transcripcional de las regiones de regulación. El casete de expresión puede contener adicionalmente genes marcadores seleccionables.

El casete de expresión incluirá en la dirección de transcripción 5'-3' una región de iniciación transcripcional y translacional (es decir, un promotor), una región de codificación y una región de terminación transcripcional y translacional funcional en plantas. “Promotor” se refiere a una secuencia de nucleótidos capaz de controlar la expresión de una secuencia de codificación o ARN funcional. En general, una secuencia de codificación se ubica en 3 con respecto a una secuencia promotora. La secuencia promotora puede comprender elementos próximos y más distales corriente arriba, con frecuencia se hace referencia a estos últimos elementos como potenciadores. Por lo tanto, un "potenciador" es una secuencia de nucleótidos que puede estimular la actividad promotora y puede ser un elemento innato del promotor o un elemento heterólogo insertado para mejorar el nivel o la especificidad tisular de un promotor. Los promotores pueden derivar en su totalidad de un gen nativo o pueden estar compuestos por diferentes elementos derivados de diferentes promotores que se encuentran en la naturaleza o incluso pueden comprenden segmentos de nucleótidos sintéticos. Los expertos en la técnica comprenden que diferentes promotores pueden dirigir la expresión de un gen en diferentes tejidos o tipos celulares o en las diferentes etapas de desarrollo o en respuesta a diferentes condiciones ambientales. Los promotores que hacen que un fragmento de ácido nucleico se exprese en la mayoría de los tipos celulares la mayor parte de las veces se denominan “promotores constitutivos”. Constantemente se descubren nuevos promotores de varios tipos útiles en células vegetales; pueden encontrarse numerosos ejemplos en la compilación de Okamuro y Goldberg, *Biochemistry of Plants*, 1989, 15:1-82. También se reconoce que, dado que en la mayoría de los casos los límites exactos de las secuencias de regulación no se definieron completamente, los fragmentos de ácido nucleico de diferentes longitudes pueden tener actividad promotora idéntica.

Los casetes de expresión pueden contener secuencias líder 5’. Dichas secuencias líder pueden actuar para mejorar la traducción. Las regiones de regulación (es decir, promotores, regiones de regulación transcripcional, regiones de procesamiento de ARN o estabilidad, intrones, señales de poliadenilación y regiones de terminación translacional) y/o las regiones de codificación pueden ser nativas/análogas o heterólogas a la célula huésped o entre sí.

La “secuencia de traducción líder” se refiere a una secuencia de nucleótidos ubicada entre la secuencia promotora de un gen y la secuencia de codificación. La secuencia de traducción líder está presente en el ARNm completamente procesado corriente arriba de la secuencia de inicio translacional. La secuencia de traducción líder puede afectar numerosos parámetros incluido el procesamiento del transcripto primario en ARNm, la estabilidad de ARNm y/o la eficiencia de la traducción. Ejemplos de secuencias de traducción líder se describieron en (Turner y Foster, *Mol. Biotechnol.*, 1995, 3:225-236). Las “secuencias no codificantes 3’” se refieren a las secuencias de nucleótidos ubicadas corriente abajo de una secuencia de codificación e incluyen las secuencias de reconocimiento de poliadenilación y otras secuencias que codifican las señales de regulación capaces de afectar el procesamiento de ARNm o la expresión del gen. La señal de poliadenilación generalmente se caracteriza por afectar la adición de tractos de ácido poliadenílico al extremo 3' del precursor de ARNm. El uso de diferentes secuencias no codificantes 3' se ejemplifica en Ingelbrecht *et al.*, *Plant Cell*, 1989, 1:671-680.

Como se utiliza en la presente, “heteróloga”, con referencia a una secuencia, es una secuencia que se origina de una especie ajena o, si es de la misma especie, está básicamente modificada con respecto a su forma nativa en composición y/o locus genómico por la intervención humana deliberada. Por ejemplo, un promotor operativamente conectado a un polinucleótido heterólogo es de una especie diferente a la especie de la cual derivó el polinucleótido o, si es de la misma especie/especie análoga, uno o ambos están básicamente modificados con respecto a su forma original y/o locus genómico, o el promotor no es nativo para el polinucleótido operativamente conectado.

Al preparar estos casetes de expresión, pueden manipularse los diversos fragmentos de ADN, con el fin de proporcionar las secuencias de ADN en la orientación apropiada y, según corresponda, en el marco de lectura apropiado. Con este fin, pueden emplearse adaptadores o conectores para unir los fragmentos de ADN o pueden estar involucradas otras manipulaciones para proporcionar sitios de restricción convenientes, eliminación de ADN superfluo, eliminación de sitios de restricción o similares. A estos efectos, pueden estar involucradas la mutagénesis *in vitro*, reparación de cebador, restricción, apareamiento, resustituciones, por ejemplo, transiciones y versiones trans. El casete de expresión puede comprender un gen marcador seleccionable para la selección de células transformadas. Se utilizan genes marcadores seleccionables para la selección de células o tejidos transformados.

Se proporcionan polinucleótidos aislados que pueden utilizarse en varios métodos para la detección y/o identificación del evento SYHT0H2 de la soja. Un polinucleótido “aislado” o “purificado” o una porción biológicamente activa de este está básica o esencialmente libre de componentes que normalmente acompañan al polinucleótido o interactúan con este como se encuentra en su entorno natural. De esta forma, un polinucleótido aislado o purificado está básicamente libre de otro material celular o medio de cultivo, cuado se produce por técnicas recombinantes, o está básicamente libre de precursores químicos u otros productos químicos cuando se sintetiza químicamente. De forma

óptima, un polinucleótido “aislado” está libre de secuencias (óptimamente secuencias que codifican proteínas) que naturalmente flanquean al polinucleótido (es decir, secuencias ubicadas en los extremos 5’ y 3’ del polinucleótido) en el ADN genómico del organismo del cual deriva el polinucleótido. Por ejemplo, en varios aspectos de la invención, el polinucleótido aislado puede contener menos de aproximadamente 5 kb, 4 kb, 3 kb, 2 kb, 1 kb, 0,5 kb o 0,1 kb de secuencia de nucleótidos que naturalmente flanquean el polinucleótido en el ADN genómico de la célula de la cual deriva el polinucleótido. Para evitar dudas, una secuencia “aislada” puede darse también en el contexto de otro ADN, ya sea in vitro o in vivo, y puede, por ejemplo, existir en una célula u organismo transgénicos.

En aspectos específicos de la invención, los polinucleótidos comprenden las secuencias de ADN de unión indicadas en la SEQ ID NO: 1-6. En otros aspectos de la invención, los polinucleótidos comprenden las secuencias de ADN indicadas en las SEQ ID NO: 11-12 y variantes y fragmentos de estas. Los fragmentos y variantes de secuencias de ADN de unión son adecuados para identificar discriminadamente el evento SYHT0H2. Como se describe en cualquier otra parte de la presente, dichas secuencias se utilizan como cebadores y/o sondas.

En otros aspectos de la invención, se proporcionan polinucleótidos que pueden detectar el evento SYHT0H2 o una región específica de SYHT0H2. Dichas secuencias incluyen cualquier polinucleótido indicado en las SEQ ID NOs: 1-20 y variantes y fragmentos de estas. En aspectos específicos de la invención, el polinucleótido utilizado para detectar el evento SYHT0H2 comprende la secuencia indicada en la SEQ ID NO: 10 o un fragmento de la SEQ ID NO: 10 que tiene al menos 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170 o 180 nucleótidos. Los fragmentos y variantes de polinucleótidos que detectan el evento SYHT0H2 o una región específica de SYHT0H2 son adecuados para identificar discriminadamente el evento SYHT0H2. Como se describe en cualquier otra parte de la presente, dichas secuencias se utilizan como cebadores y/o sondas. También se proporcionan secuencias de cebador de nucleótidos de ADN aislado que comprenden o consisten en (a) una secuencia indicada en cualquiera de las SEQ ID NOs: 11-12, 14-15 y 17-21 y (b) variantes y fragmentos de la SEQ ID NO: 10 o el complemento de esta.

“Variantes” significa secuencias básicamente similares. Para polinucleótidos, una variante comprende un polinucleótido que tiene eliminaciones (es decir, truncaciones) en el extremo 5’ y/o 3’; eliminación y/o adición de uno o más nucleótidos en uno o más sitios internos en el polinucleótido nativo y/o sustitución de uno o más nucleótidos en uno o más sitios en el polinucleótido nativo.

Como se utiliza en la presente, una “sonda” es un polinucleótido aislado al cual se le une una etiqueta detectable convencional o molécula reportera, por ejemplo, un isótopo radiactivo, ligando, agente quimioluminiscente, enzima, etc. Dicha sonda es complementaria a una hebra de un polinucleótido objetivo, en el presente caso, a una hebra de ADN aislado del evento SYHT0H2 de la soja ya sea de una planta de soja o de una muestra que incluye ADN del evento. Las sondas incluyen no sólo ácidos desoxirribonucleicos o ribonucleicos sino poliamidas y otros materiales de sonda que pueden detectar específicamente la presencia de la secuencia de ADN objetivo.

Como se utiliza en la presente, “cebadores” son polinucleótidos aislados que se aparean con una hebra de ADN objetivo complementaria por hibridación de ácido nucleico para formar un híbrido entre el cebador y la hebra de ADN objetivo, y se extienden luego a lo largo de la hebra de ADN objetivo por una polimerasa, por ejemplo, una ADN polimerasa. Pares de cebadores se refieren a su uso para amplificación de un polinucleótido objetivo, por ejemplo, por la reacción en cadena de polimerasa (PCR) u otros métodos de amplificación de ácido nucleico convencionales. “PCR” o “reacción en cadena de polimerasa” es una técnica utilizada para la amplificación de segmentos de ADN específicos (ver las Patentes de los Estados Unidos Nros. 4.683.195 y 4.800.159). Cualquier combinación de cebadores divulgados en la presente puede utilizarse de forma tal que el par permita la detección del evento SYHT0H2 (por ejemplo, cebadores que comprenden las SEQ ID NOs: 11-12, 14-15 y 17-21 y variantes o fragmentos de la SEQ ID NO: 10 o el complemento de esta). Ejemplos no taxativos de pares de cebadores útiles en los métodos divulgados incluyen (a) un primer cebador que comprende la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 11 y un segundo cebador que comprende la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 12, que puede utilizarse para amplificar una secuencia que abarca la unión BI1 (borde izquierdo 1) de ADN genómico de la soja y la secuencia heteróloga insertada que contiene la secuencia HPPD de *Avena*; (b) un primer cebador que comprende la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 14 y un segundo cebador que comprende la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 15, que puede utilizarse para amplificar una secuencia que abarca la unión BI2 (borde izquierdo 2) de ADN genómico de la soja y la secuencia heteróloga insertada que contiene la secuencia HPPD de *Avena*; (c) un primer cebador que comprende la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 17 y un segundo cebador que comprende la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 18 o la SEQ ID NO: 19, que puede utilizarse para amplificar una secuencia que abarca la unión BI1 de ADN genómico de la soja y la secuencia heteróloga insertada que contiene la secuencia HPPD de *Avena*; y (d) un primer cebador que comprende la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 17 y un segundo cebador que comprende la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 20 o la SEQ ID NO: 21, que puede utilizarse para amplificar la unión BI1 del ADN genómico de la soja y la secuencia heteróloga insertada que contiene la secuencia HPPD de *Avena*. “BI1”, tal como se usa para describir la secuencia de unión de inserto o secuencia de flanqueo, se refiere al extremo 3’ del inserto y la secuencia de flanqueo adyacente. “BI2”, tal como se usa para describir la secuencia de unión de inserto o secuencia de flanqueo, se refiere al extremo 5’ del inserto y la secuencia de flanqueo adyacente.

Las sondas y los cebadores son de una longitud de nucleótidos suficiente para unirse a la secuencia de ADN objetivo y detectar y/o identificar específicamente un polinucleótido que tiene el evento SYHT0H2. Se reconoce que las condiciones de hibridación o las condiciones de reacción pueden ser determinadas por el operador para lograr este resultado. Esta longitud puede ser cualquier longitud que sea de longitud suficiente para que sea útil en un método de detección de elección. Generalmente, se utilizan 8, 11, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 40, 50, 75, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 nucleótidos o más, o entre aproximadamente 11-20, 20-30, 30-40, 40-50, 50-100, 100-200, 200-300, 300-400, 400-500, 500-600, 600-700, 700-800 o más nucleótidos de longitud. Dichas sondas y cebadores pueden hibridarse específicamente con una secuencia objetivo en condiciones de hibridación de alta rigurosidad. Las sondas y cebadores de acuerdo con aspectos de la invención pueden tener una identidad de secuencia de ADN completa de nucleótidos contiguos con la secuencia objetivo, aunque las sondas que difieren de la secuencia de ADN objetivo y que retienen la capacidad de detectar y/o identificar específicamente una secuencia de ADN objetivo pueden diseñarse por medio de métodos convencionales. Por lo tanto, las sondas y cebadores pueden compartir aproximadamente 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o mayor identidad o complementariedad de secuencia con el polinucleótido objetivo (es decir, SEQ ID NOs: 1-12), o pueden diferir de la secuencia objetivo (es decir, SEQ ID NOs: 1-12) en 1, 2, 3, 4, 5, 6 o más nucleótidos. Las sondas pueden utilizarse como cebadores, pero generalmente están diseñadas para unirse con el ADN o ARN objetivo y no se utilizan en un proceso de amplificación.

Pueden utilizarse cebadores específicos para amplificar un fragmento de integración para producir un amplicón que puede utilizarse como una “sonda específica” o que puede detectarse para identificar el evento SYHT0H2 en muestras biológicas. Como alternativa, puede utilizarse una sonda durante la reacción de PCR para permitir la detección del evento de amplificación (es decir, una sonda TAQMAN® o una sonda MGB™) (denominada PCR en tiempo real). Cuando la sonda se hibrida con los polinucleótidos de una muestra biológica en condiciones que permiten la unión de la sonda con la muestra, esta unión puede detectarse y de esta forma proporcionar un indicio de la presencia del evento SYHT0H2 en la muestra biológica. Dicha identificación de una sonda de unión se ha descrito en la técnica. En un aspecto de la invención, la sonda específica es una secuencia que, en condiciones optimizadas, se hibrida específicamente con una región de la región de flanqueo 5’ o 3’ del evento y comprende una parte del ADN ajeno contiguo con esta. La sonda específica puede comprender una secuencia al menos 80%, entre 80 y 85%, entre 85 y 90%, entre 90 y 95% y entre 95 y 100% idéntica (o complementaria) a una región específica del evento SYHT0H2.

Como se utiliza en la presente, “ADN amplificado” o “amplicón” se refiere al producto de amplificación de polinucleótidos de un polinucleótido objetivo que es parte de una plantilla de ácido nucleico. Por ejemplo, para determinar si una planta de soja que resulta de un cruce sexual contiene el evento SYHT0H2, el ADN extraído de la muestra de tejido vegetal de la soja puede someterse a un método de amplificación de polinucleótidos utilizando un par de cebadores de ADN que incluye un primer cebador derivado de la secuencia de flanqueo adyacente al sitio de inserción de ADN heterólogo insertado, y un segundo cebador derivado del ADN heterólogo insertado para producir un amplicón que es diagnóstico de la presencia de ADN del evento SYHT0H2. “Diagnóstico” del evento SYHT0H2, significa el uso de cualquier método o ensayo que discrimine entre la presencia o la ausencia del evento SYHT0H2 en una muestra biológica. Como alternativa, el segundo cebador puede derivar de la secuencia de flanqueo. En otros aspectos adicionales de la invención, los pares de cebadores pueden derivar de la secuencia de flanqueo a ambos lados del ADN insertado para producir un amplicón que incluye todo el inserto de polinucleótido del constructo de expresión así como la secuencia que flanquea el inserto transgénico. El amplicón es de una longitud y tiene una secuencia que es diagnóstica del evento (es decir, tiene un ADN de unión del evento SYHT0H2). La longitud del amplicón puede variar desde la longitud combinada de los pares de cebadores más un par de bases de nucleótido a cualquier longitud de amplicón producido por un protocolo de amplificación de ADN. Un miembro de un par de cebadores derivado de la secuencia de flanqueo puede ubicarse a una distancia de la secuencia de ADN insertado, pudiendo estar esta distancia en el rango de un par de bases de nucleótido hasta los límites de la reacción de amplificación o aproximadamente veinte mil pares de bases de nucleótido. El uso del término “amplicón” específicamente excluye los dímeros de cebador que pueden formarse en la reacción de amplificación térmica de ADN.

Los métodos para preparar y utilizar sondas y cebadores se describen, por ejemplo en Sambrook *et al.* (eds.), Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2.ª ed, vol. 1-3, 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Ausebel *et al.* (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, 1992, Greene Publishing and Wiley-Interscience, Nueva York, NY; e Innis *et al.*, PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, 1990, Academic Press, San Diego, CA. Los pares de cebadores de PCR pueden derivar de una secuencia conocida, por ejemplo, utilizando programas informáticos creados para dichos fines, tales como la herramienta de análisis de cebador de PCR en Vector NTI versión 6 (Informax Inc., Bethesd, MD.); PrimerSelect (DNASTAR Inc., Madison, WI.); y Primer (Versión 0.5.COPYRGT., 1991, Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge, MA). Adicionalmente, la secuencia puede monitorearse visualmente e identificarse los cebadores manualmente utilizando lineamientos conocidos por los expertos en la técnica.

Debe comprenderse que, como se utiliza en la presente, el término “transgénico” incluye cualquier célula, línea celular, callo, tejido, parte de planta o planta, cuyo genotipo ha sido alterado por la presencia de un ácido nucleico heterólogo, incluidos los transgénicos inicialmente alterados de esta forma así como aquellos creados por cruces

sexuales o propagación asexual del transgénico inicial. El término “transgénico” como se utiliza en la presente no abarca la alteración del genoma (cromosómico o extracromosómico) por métodos de reproducción vegetal convencionales o por eventos naturales tales como fertilización cruzada aleatoria, infección viral no recombinante, transformación bacteriana no recombinante, transposición no recombinante o mutación espontánea.

“Transformación” se refiere a la transferencia de un fragmento de ácido nucleico al genoma de un organismo huésped, resultando en una herencia genéticamente estable. Los organismos huésped que contienen los fragmentos de ácido nucleico transformado se denominan organismos “transgénicos”. Ejemplos de métodos de transformación vegetal incluyen la transformación mediada por Agrobacterium (De Blaere *et al.*, *Meth. Enzymol.*, 1987, 143:277) y la tecnología de transformación acelerada por partículas o de “pistola de genes” (Klein *et al.*, *Nature*, 1987, 327:70-73; Patente de los Estados Unidos Nro. 4.945.050). A continuación se divulgan métodos de transformación adicionales.

De esta forma, los polinucleótidos aislados pueden incorporarse en constructos recombinantes, generalmente constructos de ADN, que son capaces de introducirse en una célula huésped y de replicarse en esta. Dicho constructo puede ser un vector que incluye un sistema de replicación y secuencias que son capaces de transcribir y traducir una secuencia codificadora de polipéptidos en una célula huésped dada. Varios vectores adecuados para transfección estable de células vegetales o para el establecimiento de plantas transgénicas han sido descritos en, por ejemplo, Pouwels *et al.*, Cloning Vectors: A Laboratory Manual, 1985; Supp. 1987; Weissbach y Weissbach, Methods for Plant Molecular Biology, 1989, Academic Press, Nueva York, NY; y Flevin *et al.*, Plant Molecular Biology Manual, 1990, Kluwer Academic Publishers. Comúnmente, los vectores de expresión vegetal incluyen, por ejemplo, uno o más genes vegetales clonados bajo el control transcripcional de secuencias reguladoras 5’ y 3’ y un marcador seleccionable dominante. Dichos vectores de expresión vegetal pueden contener una región de regulación promotora (por ejemplo, una región de regulación que controla una expresión inducible o constitutiva, regulada por el ambiente o por el desarrollo o específica de células o tejidos), un sitio de comienzo de 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 proporcionan varios métodos y composiciones para identificar el evento SYHT0H2. Dichos métodos se utilizan para identificar y/o detectar el evento SYHT0H2 en cualquier material biológico. Dichos métodos incluyen, por ejemplo, métodos para confirmar la pureza de las semillas y métodos para evaluar las semillas en un lote de semillas para el evento SYHT0H2. En un aspecto de la invención, se proporciona un método para identificar el evento SYHT0H2 en una muestra biológica y comprende poner en contacto la muestra con un primer y un segundo cebador y amplificar un polinucleótido que comprende una región específica de SYHT0H2.

Una muestra biológica puede comprender cualquier muestra en la cual se desea determinar si está presente el ADN que tiene el evento SYHT0H2. Por ejemplo, una muestra biológica puede comprender cualquier material vegetal o material que comprende o deriva de un material vegetal tales como, a modo no taxativo, productos alimenticios para humanos o animales. Como se utiliza en la presente, un “material vegetal” se refiere a material que se obtiene o deriva de una planta o parte de planta. En aspectos específicos de la invención, la muestra biológica comprende un tejido de soja.

Los cebadores y sondas basados en el ADN de flanqueo e inserto de secuencias divulgados en la presente pueden utilizarse para confirmar (y, en caso de que sea necesario, corregir) las secuencias divulgadas por métodos convencionales, por ejemplo, por reclonación y secuenciamiento de dichas secuencias. Las sondas y cebadores de polinucleótidos detectan específicamente una secuencia de ADN objetivo. Puede utilizarse cualquier método convencional de hibridación o amplificación de ácido nucleico para identificar la presencia de ADN de un evento transgénico en una muestra. “Detectar específicamente” significa que el polinucleótido puede utilizarse como un cebador para amplificar una región específica de SYHT0H2 o que el polinucleótido puede utilizarse como una sonda que se hibrida en condiciones rigurosas con un polinucleótido que tiene el evento SYHT0H2 o una región específica de SYHT0H2. El nivel o grado de hibridación que permite la detección específica del evento SYHT0H2 o una región específica del evento SYHT0H2 es suficiente para distinguir al polinucleótido con la región específica de SYHT0H2 de un polinucleótido que carece de esta región y por ello permite identificar discriminadamente el evento SYHT0H2. “Comparte suficiente identidad o complementariedad de secuencia para permitir la amplificación de un evento específico SYHT0H2” significa que la secuencia comparte al menos 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad o complementariedad con un fragmento o en toda la longitud del polinucleótido que tiene la región específica de SYHT0H2.

Con respecto a la amplificación de un polinucleótido objetivo (por ejemplo, por PCR) utilizando un par de cebadores de amplificación particular, “condiciones rigurosas” son condiciones que permiten que el par de cebadores se hibride con el polinucleótido objetivo con el cual el cebador que tiene la secuencia de tipo salvaje correspondiente (o su complemento) produciría un producto de amplificación identificable (el amplicón) que tiene una región específica de SYHT0H2 en una reacción de amplificación térmica de ADN. En un abordaje de PCR, los cebadores de oligonucleótidos pueden diseñarse para utilizarse en reacciones de PCR para amplificar una región específica de SYHT0H2. Los métodos para diseñar cebadores de PCR y clonación de PCR generalmente se conocen en la técnica y se divulgan en Sambrook *et al.* (eds.), Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2.ª ed., 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Plainview, Nueva York); Innis *et al.* (eds.), PCR Protocols: A Guide to Methods and

Applications, 1990, Academic Press, Nueva York; Innis y Gelfand (eds.), PCR Strategies, 1995, Academic Press, Nueva York; e Innis y Gelfand (eds.), PCR Methods Manual, 1999, Academic Press, Nueva York. Los métodos de amplificación se describen adicionalmente en las Patentes de los Estados Unidos Nros. 4.683.195 y 4.683.202 y Chen *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A*, 1994, 91:5695-5699. Estos métodos así como otros métodos conocidos en la técnica de amplificación de ADN pueden utilizarse en la puesta en práctica de los otros aspectos de la invención. Debe comprenderse que puede ser necesario ajustar varios parámetros en un protocolo de PCR específico a condiciones de laboratorio específicas y pueden modificarse levemente y permitir igualmente que se obtengan resultados similares. Estos ajustes serán evidentes para un experto en la técnica.

El polinucleótido amplificado (amplicón) puede ser de cualquier longitud que permita la detección del evento SYHT0H2 o de una región específica de SYHT0H2. Por ejemplo, el amplicón puede ser de aproximadamente 10, 50, 100, 200, 300, 500, 700, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 nucleótidos de longitud o más.

En aspectos específicos de la invención, se detecta una región específica del evento SYHT0H2. Puede emplearse en los métodos cualquier cebador que permita que se amplifique y/o detecte una región específica de SYHT0H2. Por ejemplo, en aspectos específicos de la invención, el primer cebador comprende un fragmento de un polinucleótido de la SEQ ID NO: 10, en donde el primer o el segundo cebador comparte suficiente identidad o complementariedad de secuencia con el polinucleótido para amplificar la región específica de SYHT0H2. El par de cebadores puede comprender un fragmento de la SEQ ID NO: 11 y un fragmento de la SEQ ID NO: 12. En otros aspectos adicionales de la invención, el primer y el segundo cebador pueden comprender (a) cualquier secuencia o cualquier combinación de las secuencias indicadas en las SEQ ID NOs: 11-12; 14-15 y 17-21; o (b) una secuencia de un fragmento de la SEQ ID NO: 10 o el complemento de esta. Los cebadores pueden ser de cualquier longitud suficiente para amplificar una región de SYHT0H2 que incluye, por ejemplo, al menos 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 15 o 30, o aproximadamente 7-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35, 35-40, 40-45 nucleótidos o más. En algunos aspectos de la invención, el primer y el segundo cebador son la SEQ ID NO: 11 y SEQ ID NO: 12, respectivamente; SEQ ID NO: 14 y SEQ ID NO: 15, respectivamente; SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 18, respectivamente; SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 19, respectivamente; SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 20, respectivamente; o la SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 21, respectivamente. Por ejemplo, pares de cebadores útiles incluyen (a) un primer cebador que comprende la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 11 y un segundo cebador que comprende la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 12, que puede utilizarse para amplificar una secuencia que abarca la unión BI1 (borde izquierdo 1) de ADN genómico de la soja y la secuencia heteróloga insertada que contiene la secuencia HPPD de *Avena*; (b) un primer cebador que comprende la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 14 y un segundo cebador que comprende la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 15, que puede utilizarse para amplificar una secuencia que abarca la unión BI2 (borde izquierdo 2) de ADN genómico de la soja y la secuencia heteróloga insertada que contiene la secuencia HPPD de *Avena*; (c) un primer cebador que comprende la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 17 y un segundo cebador que comprende la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 18 o la SEQ ID NO: 19, que puede utilizarse para amplificar una secuencia que abarca la unión BI1 de ADN genómico de la soja y la secuencia heteróloga insertada que contiene la secuencia HPPD de *Avena*; y (d) un primer cebador que comprende la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 17 y un segundo cebador que comprende la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 20 o la SEQ ID NO: 21, que puede utilizarse para amplificar la unión BI1 del ADN genómico de la soja y la secuencia heteróloga insertada que contiene la secuencia HPPD de *Avena*.

Como se describe en cualquier otra parte en la presente, puede emplearse cualquier método para amplificar por PCR el evento SYHT0H2 o una región específica, incluida, a modo no taxativo, PCR en tiempo real. Ver, por ejemplo, Livak *et al.*, *PCR Methods and Applications*, 1995, 4:357-362; Patentes de los Estados Unidos Nros. 5.538.848 y 5.723.591; Applied Biosystems User Bulletin Nro. 2, “Relative Quantitation of Gene Expression”, P/N 4303859; y Applied Biosystems User Bulletin Nro. 5, “Multiplex PCR with TAQMAN® VIC probes”, P/N 4306236.

De esta forma, en aspectos específicos de la invención, se proporciona un método de detección de la presencia del evento SYHT0H2 de la soja o progenie de este en una muestra biológica. El método comprende (a) extraer una muestra de ADN de la muestra biológica; (b) proporcionar un par de moléculas de cebador de ADN (por ejemplo, cualquier combinación de las SEQ ID NOs: 11-12, 14-15 y 17-21 y/o fragmentos útiles de la SEQ ID NO: 10 o el complemento de estas, en donde la combinación amplifica una región específica del evento SYHT0H2), incluidos, a modo no taxativo (i) cebadores que comprenden las secuencias de la SEQ ID NO: 11 y SEQ ID NO: 12, (ii) cebadores que comprenden las secuencias de la SEQ ID NO: 14 y SEQ ID NO: 15, (iii) cebadores que comprenden las secuencias de la SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 18 y (iv) cebadores que comprenden las secuencias de la SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 19; (v) cebadores que comprenden las secuencias de la SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 20; y (vi) cebadores que comprenden las secuencias de la SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 21; (c) proporcionar condiciones de reacción de amplificación de ADN; (d) realizar la reacción de amplificación de ADN, produciendo así una molécula de amplicón de ADN y (e) detectar la molécula de amplicón de ADN, en donde la detección de la molécula de amplicón de ADN en la reacción de amplificación de ADN indica la presencia del evento SYHT0H2 de la soja. Para que una molécula de ácido nucleico sirva como un cebador o sonda solo debe ser suficientemente complementaria en secuencia para poder formar una estructura estable de doble hebra en las concentraciones de disolvente y sal particulares empleadas.

En técnicas de hibridación, se emplea todo el polinucleótido o parte de este que se hibrida selectivamente con un polinucleótido objetivo que tiene un evento específico SYHT0H2. “Condiciones rigurosas” o “condiciones de hibridación rigurosas” cuando se hace referencia a una sonda de polinucleótidos significan condiciones en las cuales se hibridará una sonda con su secuencia objetivo hasta un grado detectablemente mayor que otras secuencias (por ejemplo, al menos 2 veces sobre el fondo). Con respecto a la amplificación de un polinucleótido objetivo (por ejemplo, por PCR) utilizando un par de cebadores de amplificación particular, “condiciones rigurosas” son condiciones que permiten que el par de cebadores se hibride con el polinucleótido objetivo al cual un cebador que tiene el tipo salvaje correspondiente. Condiciones rigurosas son dependientes de secuencias y serán diferentes en diferentes circunstancias. Al controlar la rigurosidad de las condiciones de hibridación y/o lavado, pueden identificarse las secuencias objetivo que son 100% complementarias a la sonda (sondeo homólogo). Como alternativa, las condiciones de rigurosidad pueden ajustarse para permitir alguna falta de coincidencia en las secuencias de forma que se detecten grados inferiores de identidad (sondeo heterólogo). Generalmente, una sonda tiene menos de aproximadamente 1000 nucleótidos de longitud o menos de 500 nucleótidos de longitud.

Como se utiliza en la presente, una secuencia considerablemente idéntica o complementaria es un polinucleótido que se hibridará específicamente con el complemento de la molécula de ácido nucleico con el cual se está comparando en condiciones de rigurosidad alta. Condiciones de rigurosidad apropiadas que promueven la hibridación de ADN, por ejemplo, 6X de cloruro de sodio/citrato de sodio (SSC) a aproximadamente 45 °C, con posterior lavado de 2X SSC a 50 °C, son conocidas por los expertos en la técnica o pueden encontrarse en Ausebel *et al.* (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, 1989, John Wiley & Sons, NY, 6.3.1-6.3.6. Comúnmente, condiciones rigurosas para hibridación y detección serán aquellas en las que la concentración salina es de menos de aproximadamente 1,5 M de ión de Na^+, comúnmente aproximadamente 0,01 a 1,0 M de concentración de ión de Na^+ (u otras sales) a pH 7,0 a 8,3 y la temperatura es de al menos aproximadamente 30 °C para sondas cortas (por ejemplo, 10 a 50 nucleótidos) y al menos aproximadamente 60 °C para sondas largas (por ejemplo, más de 50 nucleótidos). Las condiciones rigurosas pueden lograrse con la adición de agentes de desestabilización tales como formamida. Condiciones de rigurosidad baja ejemplares incluyen la hibridación con una solución amortiguadora de 30 a 35% de formamida, NaCl 1 M, 1% de SDS (sulfato de dodecil sódico) a 37 °C y un lavado en IX a 2X de SSC (20X de SSC = NaCl 3,0 M/citrato de trisodio 0,3 M) a 50 a 55 °C. Condiciones de rigurosidad moderada ejemplares incluyen la hibridación en 40 a 45% de formamida, NaCl 1,0 M, 1% de SDS a 37 °C y un lavado en 0,5X a IX de SSC a 55 a 60 °C. Condiciones de alta rigurosidad ejemplares incluyen hibridación en 50% de formamida, NaCl 1 M, 1% de SDS a 37 °C y un lavado en 0,1X de SSC a 60 a 65 °C. Opcionalmente, soluciones amortiguadoras de lavado pueden comprender aproximadamente 0,1% a aproximadamente 1% de SDS. La duración de la hibridación es generalmente menos de aproximadamente 24 horas, generalmente aproximadamente 4 a aproximadamente 12 horas. La duración del tiempo de lavado será al menos una duración de tiempo suficiente para lograr el equilibrio.

En reacciones de hibridación, la especificidad es comúnmente la función de los lavados poshibridación, siendo los factores críticos la resistencia iónica y la temperatura de la solución final de lavado. Para híbridos de ADN-ADN, puede calcularse la Tm aproximada a partir de la ecuación de Meinkoth y Wahl, *Anal. Biochem.*, 1984, 138:267-284: Tm = 81,5 °C + 16,6 (log M) + 0,41 (%GC) – 0,61 (% form) - 500/L; donde M es la molaridad de cationes monovalentes, %GC es el porcentaje de nucleótidos de guanosina y citosina en el ADN, % form es el porcentaje de formamida en la solución de hibridación y L es la longitud del híbrido en pares de bases. La Tm es la temperatura (bajo resistencia iónica y pH definidos) en la cual 50% de una secuencia objetivo complementaria se hibrida con una sonda perfectamente apareada. La Tm se reduce aproximadamente 1 °C por cada 1% de no coincidencia. De esta forma, la Tm, hibridación y/o condiciones de lavado pueden ajustarse para hibridarse con secuencias de la identidad deseada. Por ejemplo, si se apunta a secuencias con >90% de identidad, la Tm puede reducirse 10 °C. Generalmente, las condiciones rigurosas se seleccionan de forma que estén aproximadamente 5 °C por debajo del punto de fusión térmica (Tm) para la secuencia específica y su complemento a una resistencia iónica y un pH definidos. Sin embargo, las condiciones severamente rigurosas pueden utilizar una hibridación y/o lavado a 1, 2, 3, o 4 °C menos que el punto de fusión térmica (Tm); las condiciones moderadamente rigurosas pueden utilizar una hibridación y/o lavado a 6, 7, 8, 9, o 10 °C menos que el punto de fusión térmica (Tm); las condiciones de baja rigurosidad pueden utilizar una hibridación y/o lavado a 11, 12, 13, 14, 15 o 20 °C menos que el punto de fusión térmica (Tm). Utilizando la ecuación, las composiciones de hibridación y lavado y la Tm deseada, los expertos en la técnica comprenderán que las variaciones en la rigurosidad de la hibridación y/o las soluciones de lavado se describen de forma inherente. Si el grado deseado de resultados de no coincidencia en una Tm es menos de 45 °C (solución acuosa) o 32 °C (solución de formamida), es óptimo aumentar la concentración de SSC para que pueda utilizarse una temperatura más alta. Una guía completa de la hibridación de ácidos nucleicos se encuentra en Tijssen, Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, 1993, Parte I, Capítulo 2, Elsevier, NY; Ausubel *et al.* (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, 1995, Capítulo 2, Greene Publishing and Wiley-Interscience, NY; Sambrook *et al.* (eds.), Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2.ª ed., 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Plainview, NY) y Haymes *et al.*, En: Nucleic Acid Hybridization, a Practical Approach, 1985, IRL Press, Washington, DC.

Se dice que un polinucleótido es el “complemento” de otro polinucleótido si exhiben complementariedad. Como se utiliza en la presente, se dice que las moléculas exhiben “complementariedad completa” cuando cada nucleótido de una de las moléculas de polinucleótidos es complementario a un nucleótido de la otra. Se dice que dos moléculas son “mínimamente complementarias” si pueden hibridarse entre sí con suficiente estabilidad para permitirles

permanecer apareadas entre sí al menos en condiciones convencionales de “baja rigurosidad”. De manera similar, se dice que las moléculas son “complementarias” si pueden hibridarse entre sí con suficiente estabilidad para permitirles permanecer apareadas entre sí en condiciones convencionales de “alta rigurosidad”.

Se proporcionan también métodos para detectar la presencia de ADN correspondiente al evento SYHT0H2 en una muestra. En un aspecto de la invención, el método comprende (a) poner en contacto la muestra biológica con una sonda de polinucleótidos que se hibrida en condiciones de hibridación rigurosas con ADN del evento SYHT0H2 de la soja y detecta específicamente el evento SYHT0H2; (b) someter la muestra y la sonda a condiciones de hibridación rigurosas; y (c) detectar la hibridación de la sonda con el ADN, en donde la detección de la hibridación indica la presencia del evento SYHT0H2. En un aspecto de la invención, el ADN se digiere con enzimas apropiadas que se forman previamente antes del evento de hibridación.

Pueden utilizarse varios métodos para detectar la región específica de SYHT0H2 o amplicón de esta, incluido, a modo no taxativo, Análisis Bits Genéticos (Nikiforov *et al.*, *Nucleic Acid Res.*, 1994, 22: 4167-4175). En un método, se diseña un oligonucleótido de ADN que superpone la secuencia de ADN de flanqueo adyacente y la secuencia de ADN insertado. En otros aspectos de la invención, los oligos de ADN se diseñan para proporcionar un amplicón específico de SYHT0H2. El oligonucleótido se inmoviliza en pocillos de una placa de micropocillos. Después de la PCR de la región de interés puede hibridarse un producto de PCT de una única hebra con el oligonucleótido inmovilizado y sirve como una plantilla para una reacción de extensión de base única utilizando una polimerasa de ADN y ddNTP etiquetados específicos para la siguiente base esperada. La lectura puede ser fluorescente o en base a ELISA. Una señal indica la presencia de la secuencia de inserto/flanqueo debido a una amplificación, hibridación y extensión de base única exitosas.

Otro método de detección es la técnica de Pirosecuenciamiento como se describe en Winge, *Innov. Pharma. Tech.*, 2000, 00:18-24). En este método, se diseña un oligonucleótido que superpone la unión del ADN adyacente y el ADN de inserto o se emplea un par de oligos que pueden amplificar una región específica de SYHT0H2. El oligonucleótido se hibrida con un producto de PCR de única hebra de la región de interés (un cebador en la secuencia insertada y uno en la secuencia de flanqueo) y se incuba en presencia de una ADN polimerasa, ATP, sulfurilasa, luciferasa, apirasa, adenosina 5’ fosfosulfato y luciferina. Los dNTP se agregan de forma individual y la incorporación resulta en una señal de luz que se mide. Una señal de luz indica la presencia de la secuencia de inserto/flanqueo de transgén debido a una amplificación, hibridación y extensión de base única o múltiple exitosas.

La Polarización de Fluorescencia como se describe en Chen *et al.*, G*enome Res.*, 1999, 9: 492-498) es un método que puede utilizarse para detectar un amplicón de la invención. Utilizando este método, se diseña un oligonucleótido que superpone la unión del ADN de flanqueo y el inserto de ADN o se emplea un par de oligos que pueden amplificar una región específica de SYHT0H2. El oligonucleótido se hibrida con un producto de PCR de única hebra de la región de interés (un cebador en la secuencia de ADN insertada y uno en la secuencia de ADN de flanqueo) y se incuba en presencia de una ADN polimerasa y ddNTP con etiqueta fluorescente. La extensión de base única resulta en la incorporación del ddNTP. La incorporación puede medirse como un cambio en la polarización utilizando un fluorómetro. Un cambio en la polarización indica la presencia de la secuencia de inserto/flanqueo de transgén debido a una amplificación, hibridación y extensión de base única exitosas.

TAQMAN® (PE Applied Biosystems, Foster City, CA) se describe como un método de detección y cuantificación de la presencia de una secuencia de ADN y se comprende completamente en las instrucciones proporcionadas por el fabricante. Brevemente, se diseña una sonda de oligonucleótidos FRET que superpone la unión del ADN de flanqueo e inserto o se emplea un par de oligos que pueden amplificar una región específica de SYHT0H2. La sonda FRET y los cebadores de PCR (un cebador en la secuencia del ADN de inserto y uno en la secuencia genómica de flanqueo) se realizan en ciclo en presencia de una polimerasa termoestable y dNTP. La hibridación de la sonda FRET resulta en la escisión y liberación del resto fluorescente lejos del resto de aplacamiento en la sonda FRET. Una señal fluorescente indica la presencia de un inserto de secuencia de flanqueo/transgén debido a amplificación e hibridación exitosas.

Se han descrito balizas moleculares para su uso en la detección de secuencias como se describe en Tyangi *et al.*, *Nature Biotech.*, 1996, 14: 303-308). Brevemente, se diseña una sonda de oligonucleótidos FRET que superpone la unión del ADN de flanqueo e inserto o se emplea un par de oligos que pueden amplificar una región específica de SYHT0H2. La estructura única de la sonda FRET resulta en que esta contiene una estructura secundaria que mantiene los restos fluorescentes y de aplacamiento en proximidad cercana. La sonda FRET y los cebadores de PCR (un cebador en la secuencia del ADN de inserto y uno en la secuencia de flanqueo) se realizan en ciclo en presencia de una polimerasa termoestable y dNTP. Después de una amplificación por PCR exitosa, la hibridación de la sonda FRET con la secuencia objetivo resulta en la eliminación de la estructura secundaria de la sonda y la separación espacial de los restos fluorescentes y de aplacamiento. El resultado es una señal fluorescente. Una señal fluorescente indica la presencia de un inserto de secuencia de flanqueo/transgén debido a amplificación e hibridación exitosas.

Una reacción de hibridación utilizando una sonda específica de una secuencia encontrada dentro del amplicón es otro método adicional utilizado para detectar el amplicón producido por una reacción PCR.

Como se utiliza en la presente, “kit” se refiere a un conjunto de reactivos a efectos de realizar los aspectos del método de la invención, más particularmente, la identificación y/o detección del evento SYHT0H2 en muestras biológicas. El kit puede utilizarse, y sus componentes pueden ajustarse específicamente, a efectos de control de calidad (por ejemplo, pureza de grupos de semillas), detección del evento SYHT0H2 en material vegetal o material que comprende material vegetal o derivados de este, tales como, a modo no taxativo, productos alimenticios para animales o humanos.

En aspectos específicos de la invención, se proporciona un kit para identificar el evento SYHT0H2 en una muestra biológica. El kit comprende un primer y un segundo cebador, en donde el primer y el segundo cebador amplifican un polinucleótido que comprende una región específica de SYHT0H2. En aspectos adicionales de la invención, el kit comprende un polinucleótido para la detección de la región específica de SYHT0H2. El kit puede comprender, por ejemplo, un primer cebador que comprende un fragmento de un polinucleótido de la SEQ ID NO: 10 o el complemento de esta, en donde el primer o el segundo cebador comparten suficiente homología o complementariedad de secuencia con el polinucleótido para amplificar la región específica de SYHT0H2. Por ejemplo, el par de cebadores pueden comprender un fragmento de la SEQ ID NO: 11 y un fragmento de la SEQ ID NO: 12 o el complemento de esta. En otros aspectos adicionales, el primer y el segundo cebador pueden comprender cualquier combinación de las secuencias indicadas en las SEQ ID NOs: 11-12, 14-15 y 17-21. Los cebadores pueden ser de cualquier longitud suficiente para amplificar una región de SYHT0H2 que incluye, por ejemplo, al menos 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 15 o 30, o aproximadamente 7-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35, 35-40, 40-45 nucleótidos o más. En algunos aspectos de la invención, el primer y el segundo cebador son la SEQ ID NO: 11 y SEQ ID NO: 12, respectivamente; SEQ ID NO: 14 y SEQ ID NO: 15, respectivamente; SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 18, respectivamente; o SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 19, respectivamente; o SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 20, respectivamente; o SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 21, respectivamente. Por ejemplo, los pares de cebadores indicados anteriormente pueden utilizarse para amplificar (a) una secuencia que abarca la unión BI1 de ADN genómico de la soja y el inserto heterólogo que contiene la secuencia HPPD de *Avena* (SEQ ID NOs: 11 y 12; SEQ ID NOs: 17 y 18; SEQ ID NOs: 17 y 19); o (b) una secuencia que abarca la unión BI2 de ADN genómico de soja y el inserto heterólogo que contiene la secuencia HPPD de *Avena* (SEQ ID NOs: 14 y 15; SEQ ID NOs: 17 y 20; SEQ ID NOs: 17 y 21).

También se proporcionan kits de detección de ADN que comprenden al menos un polinucleótido que puede detectar específicamente una región específica de SYHT0H2, en donde el polinucleótido comprende al menos una molécula de ADN de una longitud suficiente de nucleótidos contiguos homólogos o complementarios a la SEQ ID NO: 10. En aspectos específicos de la invención, el kit de detección de ADN comprende un polinucleótido de cualquiera de las SEQ ID NOs: 11-12, o fragmento de estas, o una secuencia que se hibrida con cualquiera de las SEQ ID NOs: 11-12, o fragmento de estas.

Cualquiera de los polinucleótidos y fragmentos y variantes de estos empleados en los métodos y composiciones pueden compartir identidad de secuencia con una región del inserto de transgén del evento SYHT0H2, una secuencia de unión del evento SYHT0H2 o una secuencia de flanqueo del evento SYHT0H2. Se conocen métodos para determinar la relación de varias secuencias. Como se utiliza en la presente, “secuencia de referencia” es una secuencia definida utilizada como una base para comparación de secuencias. Una secuencia de referencia puede ser un subconjunto o toda la secuencia especificada; por ejemplo, como un segmento de una secuencia de longitud completa de ADNc o de genes, o la secuencia completa de ADNc o de genes. Como se utiliza en la presente, “ventana de comparación” hace referencia a un segmento contiguo y específico de una secuencia de polinucleótidos, en donde la secuencia de polinucleótidos en la ventana de comparación puede comprender adiciones o eliminaciones (es decir, brechas) en comparación con la secuencia de referencia (que no comprende adiciones o eliminaciones) para alineación óptima de los dos polinucleótidos. Generalmente, la ventana de comparación es de al menos 20 nucleótidos contiguos de longitud y, opcionalmente puede ser de 30, 40, 50, 100 o más. Los expertos en la técnica comprenden que para evitar una similitud alta con una secuencia de referencia debido a la inclusión de brechas en la secuencia de polinucleótidos, normalmente se introduce una penalización por brecha y se resta del número de coincidencias.

Los métodos de alineación de secuencias para comparación se conocen bien en la técnica. De esta forma, la determinación de la identidad de secuencia porcentual entre dos secuencias cualquiera puede lograrse utilizando un algoritmo matemático. Ejemplos no taxativos de dichos algoritmos matemáticos son el algoritmo de Myers y Miller, *CABIOS*, 1988, 4:11- 17; el algoritmo de alineación local de Smith *et al.*, *Adv. Appl. Math.*, 1981, 2:482; el algoritmo de alineación global de Needleman y Wunsch, *J. Mol. Biol.*, 1970, 48:443- 453; el método de alineación de búsqueda local de Pearson y Lipman, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1988, 85:2444-2448; el algoritmo de Karlin y Altschul, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1990, 87:2264, modificado como en Karlin y Altschul, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1993, 90:5873-5877.

Las implementaciones informáticas de estos algoritmos matemáticos pueden utilizarse para comparar las secuencias y determinar la identidad de secuencia. Dichas implementaciones incluyen, a modo no taxativo: CLUSTAL en el programa PC/Gene (disponible en Intelligenetics, Mountain View, CA); el programa ALIGN (Versión 2.0) y GAP, BESTFIT, BLAST, FASTA y TFASTA en el paquete informático de genética Wisconsin del GCG, Versión 10

(disponible en Accelrys Inc., 9685 Scranton Road, San Diego, CA). Las alineaciones que utilizan estos programas pueden realizarse utilizando los parámetros por defecto. El programa CLUSTAL se describe bien en Higgins *et al.*, *Gene*, 1988, 73:237-244; Higgins *et al.*, *C45/OS*, 1989, 5:151-153; Corpet *et al.*, *Nucleic Acids Res.*, 1988, 16:10881-90; Huang *et al.*, *CABIOS*, 1992, 8:155-65; y Pearson *et al.*, *Meth. Mol. Biol.*, 1994, 24:307-331. El programa ALIGN se basa en el algoritmo de Myers y Miller, *CABIOS*, 1988, 4:11- 17. Una tabla de residuo de peso PAM120, una penalización por longitud de brecha de 12 y una penalización por brecha de 4 pueden utilizarse con el programa ALIGN cuando se comparan secuencias de aminoácidos. Los programas BLAST de Altschul *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 1990, 215:403 se basan en el algoritmo de Karlin y Altschul, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1993, 90:5873-5877. Las búsquedas de nucleótidos BLAST pueden realizarse con el programa BLASTN, puntaje = 100, longitud de palabra = 12, para obtener las secuencias de nucleótidos homólogas a una secuencia de nucleótidos que codifica una proteína. Las búsquedas de proteínas de BLAST pueden realizarse con el programa BLASTX, puntaje = 50, longitud de palabra = 3, para obtener las secuencias de aminoácidos homólogas a una proteína o polipéptido. Para obtener alineaciones con brechas a efectos de comparación, puede utilizarse Gapped BLAST (en BLAST 2.0) como se describe en Altschul *et al.*, *Nucleic Acids Res.*, 1997, 25:3389. Como alternativa, puede utilizarse PSI-BLAST (en BLAST 2.0) para realizar una búsqueda iterada que detecta las relaciones distantes entre moléculas. Ver Altschul *et al.*, *Nucleic Acids Res.*, 1997, 25:3389. Cuando se utiliza BLAST, Gapped BLAST, PSI-BLAST, pueden utilizarse los parámetros por defecto de los respectivos programas (por ejemplo, BLASTN para secuencias de nucleótidos, BLASTX para proteínas). La alineación puede realizarse manualmente por inspección.

A menos que se indique lo contrario, los valores de identidad/similitud de secuencia proporcionados en la presente se refieren al valor obtenido utilizando GAP versión 10 utilizando los siguientes parámetros: % de identidad y % de similitud para una secuencia de nucleótidos utilizando un peso de brecha de 50 y un peso de longitud de 3 y la matriz de puntuación nwsgapdna.cmp; % de identidad y % de similitud para una secuencia de aminoácidos utilizando un peso de brecha de 8 y un peso de longitud de 2 y la matriz de puntuación BLOSUM62; o cualquier programa equivalente de estos. “Programa equivalente” significa cualquier programa de comparación de secuencias que, para dos secuencias cualquiera en cuestión, genera una alineación que tiene coincidencias de residuos de nucleótidos o aminoácidos idénticas y una identidad de secuencia porcentual idéntica cuando se compara con la alineación correspondiente generada por GAP Versión 10.

GAP utiliza el algoritmo de Needleman y Wunsch, *J. Mol. Biol.*, 1970, 48:443-453, para encontrar la alineación de dos secuencias completas que maximiza el número de coincidencias y minimiza el número de brechas. GAP considera todas las alineaciones y las posiciones de brechas posibles y crea la alineación con el mayor número de bases coincidentes y la menor cantidad de brechas. Permite proporcionar una penalización por creación de una brecha y una penalización por extensión de una brecha en unidades de bases coincidentes. GAP debe sacar provecho de la cantidad de coincidencias con la penalización por creación de brechas para cada brecha que inserta. Si se elige una penalización por extensión de brecha mayor que cero, GAP debe, además, sacar provecho de cada brecha insertada que consiste en la longitud de la brecha por la penalización de la extensión de la brecha. Los valores de penalización por creación de una brecha y los valores de penalización por extensión de una brecha por defecto en la Versión 10 del paquete informático de genética Wisconsin del GCG para secuencias de proteínas son 8 y 2, respectivamente. Para secuencias de nucleótidos, la penalización por creación de una brecha por defecto es 50 mientras que la penalización por extensión de una brecha por defecto es 3. Las penalizaciones por creación de una brecha y extensión de una brecha pueden expresarse como un número entero seleccionado del grupo de números enteros que comprende de 0 a 200. De esta forma, por ejemplo, las penalizaciones por creación de una brecha y extensión de una brecha pueden ser 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65 o mayores.

GAP presenta un miembro de la familia de las mejores alineaciones. Puede haber varios miembros de esta familia, pero ningún otro miembro tiene una mejor calidad. GAP exhibe cuatro figuras importantes para alineaciones: calidad, relación, identidad y similitud. La calidad es la métrica maximizada con el fin de alinear las secuencias. La relación es la calidad dividida por el número de bases en el segmento más corto. La identidad porcentual es el porcentaje de los símbolos que coinciden realmente. La similitud porcentual es el porcentaje de los símbolos que son similares. Los símbolos que se encuentran a través de las brechas se ignoran. Se logra una similitud cuando el valor de la matriz de puntaje para un par de símbolos es mayor o igual a 0,50, el umbral de similitud. La matriz de puntuación utilizada en la Versión 10 del paquete informático de genética Wisconsin del GCG es BLOSUM62 (ver Henikoff y Henikoff, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1989, 89:10915).

Como se utiliza en la presente, “identidad de secuencia” o “identidad”, en el contexto de dos polinucleótidos o secuencias de polipéptidos, hace referencia a los residuos en las dos secuencias que son los mismos cuando se alinean para correspondencia máxima en una ventana de comparación especificada. Cuando se utiliza un porcentaje de identidad de secuencia con referencia a proteínas, se reconoce que las posiciones de los residuos que no son idénticas a menudo difieren por las sustituciones de aminoácido conservadoras, donde los residuos de aminoácidos están sustituidos por otros residuos de aminoácidos con propiedades químicas similares (por ejemplo, carga o hidrofobicidad) y, por lo tanto, no cambian las propiedades funcionales de la molécula. Cuando las secuencias difieren en sustituciones conservadoras, la identidad de secuencia porcentual puede ajustarse hacia arriba para corregir la naturaleza conservadora de la sustitución. Se dice que las secuencias que difieren en dichas sustituciones conservadoras tienen “similitud de secuencias” o “similitud”. Los expertos en la técnica conocen bien los medios para

realizar este ajuste. Comúnmente esto implica la puntuación de una sustitución conservadora como una no coincidencia parcial en vez de total, aumentando así el porcentaje de identidad de secuencia. De esta forma, por ejemplo, donde a un aminoácido idéntico se le da un puntaje de 1 y a una sustitución no conservadora se le da un puntaje de cero, a una sustitución conservadora se le da un puntaje entre cero y 1. Se calcula la puntuación de las sustituciones conservadoras, por ejemplo, como se implementa en el programa PC/GENE (Intelligenetics, Mountain View, CA).

Como se utiliza en la presente, “porcentaje de identidad de secuencia” significa el valor determinado por la comparación de dos secuencias óptimamente alineadas en una ventana de comparación, en donde la porción de la secuencia de polinucleótidos en la ventana de comparación puede comprender adiciones o eliminaciones (es decir, brechas) en comparación con la secuencia de referencia (que no comprende adiciones o eliminaciones) para alineación óptima de las dos secuencias. El porcentaje se calcula determinando el número de posiciones en las cuales la base de ácidos nucleicos idénticos o residuo de aminoácidos se produce en ambas secuencias para proporcionar el número de posiciones coincidentes, dividiendo el número de posiciones coincidentes por el número total de posiciones en la ventana de comparación y multiplicando el resultado por 100 para proporcionar el porcentaje de identidad de secuencia.

La presente divulgación proporciona un método de control selectivo de malezas en una ubicación (es decir, un área de cultivo) que comprende plantas de cultivo y malezas, en donde las plantas de cultivo comprenden SYHT0H2, en donde el método comprende la aplicación a la ubicación de una cantidad de control de malezas de una composición herbicida que comprende uno o más herbicidas inhibidores de HPPD.

El término “control” y los derivados de este, por ejemplo, como en “controlar las malezas” se refiere a uno o más de los siguientes: inhibir el crecimiento, la germinación, reproducción y/o proliferación; y/o matar, eliminar, destruir o, de otro modo, disminuir la aparición y/o actividad de una maleza.

Como se utiliza en la presente, un “área de cultivo” o “ubicación” comprende cualquier región en la cual se desee cultivar una planta. Dichas áreas de cultivos incluyen, a modo no taxativo, un campo en el cual se cultiva una planta (tal como un campo de cultivo, un campo de césped, un campo de árboles, un bosque tratado, un campo para cultivar frutas y verduras, etc.), un invernadero, una cámara de cultivo, etc.

Los métodos comprenden plantar el área de cultivo con las semillas o plantas con SYHT0H2 de soja y, en aspectos específicos de la invención, aplicar al cultivo, semilla, maleza o área de cultivo de esta una cantidad de un herbicida de interés para control de las malezas. Se reconoce que el herbicida puede aplicarse antes o después de que la cosecha se plante en el área de cultivo. Dichas aplicaciones de herbicidas pueden incluir una aplicación de un inhibidor de HPPD, ya sea solo o en combinación con otros herbicidas que son tolerados por el cultivo. El experto en la técnica apreciará que la cantidad de control de malezas variará, por ejemplo, dependiendo del tipo y la programación de la aplicación del herbicida o herbicidas, pero se iguala a una cantidad que proporciona niveles deseables de control de malezas mientras que causa poco daño al cultivo, en caso de que lo hubiese. Para un herbicida inhibidor de HPPD, la cantidad será comúnmente de entre 15 y 500 g ia/ha.

En otro aspecto de la divulgación, la composición herbicida comprende al menos dos inhibidores de HPPD. Los inhibidores de HPPD pueden aplicarse a una tasa efectiva para controlar selectivamente las mezclas y no dañar considerablemente el cultivo.

En un aspecto particular de la divulgación, el inhibidor de HPPD se selecciona del grupo que comprende benzobiciclón, biciclopirona, mesotriona, sulcotriona, tefuriltriona, tembotriona, ketospiradox o el ácido libre de este, benzofenap, pirasulfotol, pirazolinato, pirazoxifén, topramezona, [2-cloro-3-(2-metoxietoxi)-4-(metilsulfonil)fenil](1-etil-5-hidroxi-1*H*-pirazol-4-il)-metanona, (2,3-dihidro-3,3,4-trimetil-1,1-dioxidobenzo[b]tien-5-il)(5-hidroxi-1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-metanona, isoxaclortol, isoxaflutol, α-(ciclopropilcarbonil)-2-(metilsulfonil)-β-oxo-4-cloro-bencenopropanonitrilo, y α-(ciclopropilcarbonil)-2-(metilsulfonil)-β-oxo-4-(trifluorometil)-bencenopropanonitrilo o una sal agriculturalmente aceptable de estos. En una realización particularmente preferida el inhibidor de HPPD es mesotriona En una realización particularmente preferida el inhibidor de HPPD es tembotriona. En una realización particularmente preferida el inhibidor de HPPD es biciclopirona. En una realización particularmente preferida el inhibidor de HPPD es isoxaflutol. En una realización particularmente preferida el inhibidor de HPPD es pirasulfatol. En una realización particularmente preferida el inhibidor de HPPD es topramezona.

Las plantas de soja que comprenden el evento SYHT0H2 pueden comprender una o más regiones de polinucleótidos adicionales que codifican el o los polipéptidos que imparten tolerancia a uno o más herbicidas, insectos, infecciones fúngicas, bacterianas y/o virales adicionales. Ejemplos de polipéptido(s) que imparte(n) tolerancia a herbicidas incluyen, por ejemplo, 5-enol-piruvil-shiquimato-3-fosfato sintetasa (EPSPS) tolerante a glifosato (como se describe, por ejemplo, en las Patentes de los Estados Unidos Nros. 5.804.425 y 6.566.587), glifosato N-acetil transferasa (GAT) (como se describe, por ejemplo, en el documento WO02/036782), 4-hidroxipiruvildioxgenasa (HPPD) tolerante a los herbicidas (como se describe, por ejemplo, en el documento WO02/46387), fosfinotricina acetil transferasa (PAT) (como se describe, por ejemplo, en el documento de los Estados Unidos 5.273.894), citocromo P450 (como se describe, por ejemplo, en la Publicación Internacional PCT

Nro. WO 07/103567), glutationa S-transferasa (GST) (como se describe, por ejemplo, en la Publicación Internacional PCT Nro. WO 01/21770), acetil-COA-carboxilasa (ACCasa) tolerante a los herbicidas, acetolactato sintasa (ALS) tolerante a los herbicidas (como se describe, por ejemplo, en la Patente de los Estados Unidos Nro. 5.013.659), protoporfirinógeno oxidasa (PPGO) tolerante a los herbicidas (como se describe, por ejemplo, en la Publicación Internacional PCT Nro. WO 95/34659), bromoxinil nitrilasa (por ejemplo, como se describe en la Publicación Internacional PCT Nro. WO 89/00193), fitoeno desaturasa tolerante a los herbicidas (como se describe, por ejemplo, en la Solicitud Europea Publicada Nro. 0393690), ariloxialcanoato dioxigenasa (como se describe, por ejemplo, en las Publicaciones Internacionales PCT Nros. WO 2005/107437 y WO 2007/053482) y enzimas degradadoras de dicamba (como se describe, por ejemplo, en la Publicación Internacional PCT Nro. WO 98/45424); incluidas variantes conocidas mutagenizadas o modificadas de otra forma de estos polipéptidos.

Por lo tanto, una composición herbicida aplicada a la ubicación puede comprender adicionalmente uno o más pesticidas adicionales a los cuales la planta de soja que comprende el evento SYHT0H2 es tolerante, por ejemplo a un nematicida, un insecticida, un fungicida y/o un herbicida. Ejemplos de pesticidas adecuados se enumeran en Tomlin, C.D.S. (ed.), The Pesticide Manual, 14.ª ed., 2006.

Por ejemplo el pesticida puede ser uno o más pesticidas seleccionados de las siguientes clases de principios insecticida, acaricida, nematicida o molusquicidamente activos:

Alanicarb, Aldicarb, Bendiocarb, Benfuracarb, Butocarboxim, Butoxicarboxim, Carbarilo, Carbofurano, Carbosulfán, Etiofencarb, Fenobucarb, Formetanato, Furatiocarb, Isoprocarb, Metiocarb, Metomilo, Metolcarb, Oxamilo, Pirimicarb, Propoxur, Tiodicarb, Tiofanox, Triazamato, Trimetacarb, XMC, Xililcarb; Acefato, Azametifós, Azinfós-etilo, Azinfós-metilo, Cadusafós, Cloretoxifós, Clorfenvinfós, Clormefós, Clorpirifós, Clorpirifós-metilo, Coumafós, Cianofós, Demetón-S-metilo, Diazinón, Diclorvós/DDVP, Dicrotofós, Dimetoato, Dimetilvinfós, Disulfotón, EPN, Etión, Etoprofós, Famfur, Fenamifós, Fenitrotión, Fentión, Fostiazato, Heptenofós, Imiciafós, Isofenfós, Isopropil O-(metoxiaminotio-fosforil) salicilato, Isoxatión, Malatión, Mecarbam, Metamidofós, Metidatión, Mevinfós, Monocrotofós, Naled, Ometoato, Oxidometón-metilo, Paratión, Paratión-metilo, Fentoato, Forato, Fosalona, Fosmet, Fosfamidón, Foxim, Pirimifós-metilo, Profenofós, Propetamfós, Protiofós, Piraclofós, Piridafentión, Quinalfós, Sulfotep, Tebupirimfós, Temefós, Terbufós, Tetraclorvinfós, Tiometón, Triazofós, Triclorfón, Vamidotión, organocloros de ciclodieno, Clordano, Endosulfán; Etiprol, Fipronilo, Acrinatrina, Aletrina, d-cis-trans Aletrina, d-trans Aletrina, Bifentrina, Bioaletrina, Isómero de bioaletrina S-ciclopentenilo, Bioresmetrina, Cicloprotrina, Ciflutrina, beta-Ciflutrina, Cihalotrina, lambda-Cihalotrina, gamma-Cihalotrina, Cipermetrina, alfa-Cipermetrina, beta-Cipermetrina, theta-Cipermetrina, zeta-Cipermetrina, Cifenotrina [isómeros (1R)-trans], Deltametrina, Empentrina [isómeros (EZ)-(1R)], Esfenvalerato, Etofenprox, Fenpropatrina, Fenvalerato, Flucitrinato, Flumetrina, tau-Fluvalinato, Halfenprox, Imiprotrina, Kadetrina, Permetrina, Fenotrina [isómero (1R)-trans), Praletrina, Piretrina (piretrum), Resmetrina, Silafluofén, Teflutrina, Tetrametrina, Tetrametrina [isómeros (1R)], Tralometrina, Transflutrina; DDT; Metoxicloro, Acetamiprid, Clotianidina, Dinotefuran, Imidacloprid, Nitenpiram, Tiacloprid, Tiametoxam; Nicotina, Spinetoram, Spinosad, Abamectina, Emamectin benzoato, Lepimectina, Milbemectina, Hidropreno, Kinopreno, Metopreno; Fenoxicarb; Piriproxifén, Cloropicrín; Fluoruro de sulfurilo; Bórax; Tártaro emético, Pimetrozina; Flonicamida, Clofentezina, Hexitiazox, Diflovidazina, Etoxazol, Bacillus thuringiensis subespecie israelensis, Bacillus sphaericus, Bacillus thuringiensis subespecie aizawai, Bacillus thuringiensis subespecie kurstaki, Bacillus thuringiensis subespecie tenebrionis, Proteínas de cultivos BT: Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1Fa, Cry2Ab, mCry3A, Cry3Ab, Cry3Bb, Cry34/35Ab1, Diafentiurón, Azociclotina, Cihexatina, Óxido de Fenbutatina; Propargita, Tetradifón,.Clorfenapir, DNOC, Sulfluramida, Bensultap, Cartap clorhidrato, Tiociclam, Tiosultap-sodio, Bistriflurón, Clorfluazurón, Diflubenzurón, Flucicloxurón, Flufenoxurón, Hexaflumurón, Lufenurón, Novalurón, Noviflumurón, Teflubenzurón, Triflumurón, Buprofezina, Ciromazina, Cromafenozida, Halofenozida, Metoxifenozida, Tebufenozida, Amitraz, Hidrametilnón; Acequinocilo; Fluacripirim, Fenazaquina, Fenpiroximato, Pirimidifén, Piridabén, Tebufenpirad, Tolfenpirad, Rotenona (Derris), Indoxacarb; Metaflumizona, Spirodiclofén, Spiromesifén, Spirotetramat, Fosfuro de aluminio, Fosfuro de calcio, Fosfina, Fosfuro de zinc, Cienopirafén, Clorantraniliprol, Flubendiamida, Amidoflumet, Azadiractina, Benclotiaz, Benzoximato, Bifenazato, Bromopropilato, Quinometionato, Criolita, Ciantraniliprol (Cyazypyr), Ciflumetofén, Dicofol, Diflovidazina, Fluensulfona, Flufenerim, Flufiprol, Fluopiram, Fufenozida, Imidaclotiz, Iprodiona, Meperflutrina, Piridalilo, Pirifluquinazona, Tetrametilflutrina, Yodometano; productos a base de Bacillus firmus (incluidos, a modo no taxativo, la cepa CNCM I-1582, tal como, por ejemplo, VOTiVO™, BioNem); 3-bromo-N-{2-bromo-4-cloro-6-[(1-ciclopropiletil)carbamoil]fenil}-1-(3-cloropiridin-2-il)-1H-pirazol-5-carboxamida (conocido a partir del documento WO2005/077934), 4-{[(6-bromopiridin-3-il)metil](2-fluoroetil)amino}furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO2007/115644), 4-{[(6-fluoropiridin-3-il)metil](2,2-difluoroetil)amino}furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO2007/115644), 4-{[(2-cloro-1,3-tiazol-5-il)metil](2-fluoroetil)amino}furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO2007/115644), 4-{[(6-clorpiridin-3-il)metil](2-fluoroetil)amino}furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO2007/115644), Flupiradifurona, 4-{[(6-clor-5-fluoropiridin-3-il)metil](metil)amino}furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO2007/115643), 4-{[(5,6-dicloropiridin-3-il)metil](2-fluoroetil)amino}furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO2007/115646), 4-{[(6-cloro-5-fluoropiridin-3-il)metil]-(ciclopropil)-amino}-furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO2007/115643), 4-{[(6-cloropiridin-3-il)metil]-(ciclopropil)-amino}furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento EP-A-0 539 588), 4-{[(6-clorpiridin-3-il)-metil](metil)amino}furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento EP-A-0 539 588), {[1-(6-cloropiridin-3-il)etil](metil)óxido-λ^4-sulfanilideno}cianamida (conocido a partir del documento WO2007/149134) y sus diastereómeros {[(1R)-1-(6-cloropiridin-3-il)etil](metil)óxido-λ^4-sulfanilideno}cianamida (A) y {[(1S)-1-(6-cloropiridin-3-

il)etil](metil)óxido-λ^4-sulfanilideno}cianamida (B) (también conocido a partir del documento WO2007/149134) así como Sulfoxaflor y sus diastereómeros [(R)-metil(óxido){(1R)-1-[6-(trifluorometil)piridin-3-il]etil}-λ^4-sulfanilideno]cianamida (A1) y [(S)-metil(óxido){(1S)-1-[6-(trifluorometil)piridin-3-il]etil}-λ^4-sulfanilideno]cianamida (A2), a los que se hace referencia como grupo de diastereómeros A (conocido a partir de los documentos WO2010/074747, WO2010/074751), [(R)-metil(óxido){(1S)-1-[6-(trifluorometil)piridin-3-il]etil}-λ^4-sulfanilideno]cianamida (B1) y [(S)-metil(óxido){(1R)-1-[6-(trifluorometil)piridin-3-il]etil}-λ^4-sulfanilideno]cianamida (B2), a los que se hace referencia como grupo de diastereómeros B (también conocido a partir de los documentos WO2010/074747, WO2010/074751), y 11-(4-cloro-2,6-dimetilfenil)-12-hidroxi-1,4-dioxa-9-azadispiro[4.2.4.2]tetradec-11-en-10-ona (conocido a partir del documento WO2006/089633), 3-(4'-fluoro-2,4-dimetilbifenil-3-il)-4-hidroxi-8-oxa-1-azaspiro[4.5]dec-3-en-2-ona (conocido a partir del documento WO2008/067911), 1-{2-fluoro-4-metil-5-[(2,2,2-trifluoretil)sulfinil]fenil}-3-(trifluorometil)-1H-1,2,4-triazol-5-amina (conocido a partir del documento WO2006/043635), [(3S,4aR,12R,12aS,12bS)-3-[(ciclopropilcarbonil)oxi]-6,12-dihidroxi-4,12b-dimetil-11-oxo-9-(piridin-3-il)-1,3,4,4a,5,6, 6a,12,12a,12b-decahidro-2H,11H-benzo[f]-pirano[4,3-b]cromen-4-il]metil ciclopropanocarboxilato (conocido a partir del documento WO2008/066153), 2-ciano-3-(difluorometoxi)-N,N-dimetilbencenosulfonamida (conocido a partir del documento WO2006/056433), 2-ciano-3-(difluorometoxi)-N-metilbencenosulfonamida (conocido a partir del documento WO2006/100288), 2-ciano-3-(difluorometoxi)-N-etilbencenosulfonamida (conocido a partir del documento WO2005/035486), 1,1-dióxido de 4-(difluorometoxi)-N-etil-N-metil-1,2-benzotiazol-3-amina (conocido a partir del documento WO2007/057407), N-[1-(2,3-dimetilfenil)-2-(3,5-dimetilfenil)etil]-4,5-dihidro-1,3-tiazol-2-amina (conocido a partir del documento WO2008/104503), {1'-[(2E)-3-(4-clorofenil)prop-2-en-1-il]-5-fluorospiro[indol-3,4'-piperidin]-1(2H)-il}(2-cloropiridin-4-il)metanona (conocido a partir del documento WO2003/106457), 3-(2,5-dimetilfenil)-4-hidroxi-8-metoxi-1,8-diazaspiro[4.5]dec-3-en-2-ona (conocido a partir del documento WO2009/049851), 3-(2,5-dimetilfenil)-8-metoxi-2-oxo-1,8-diaza-espiro[4.5]dec-3-en-4-il etil carbonato (conocido a partir del documento WO2009/049851), 4-(but-2-in-1-iloxi)-6-(3,5-dimetilpiperidin-1-il)-5-fluoropirimidina (conocido a partir del documento WO2004/099160), (2,2,3,3,4,4,5,5-octafluoropentil)(3,3,3-trifluoropropil)malononitrilo (conocido a partir del documento WO2005/063094), (2,2,3,3,4,4,5,5-octafluoropentil)(3,3,4,4,4-pentafluorobutil)malononitrilo (conocido a partir del documento WO2005/063094), 8-[2-(ciclopropilmetoxi)-4-(trifluorometil)fenoxi]-3-[6-(trifluorometil)-piridazin-3-il]-3-azabiciclo[3.2.1]octano (conocido a partir del documento WO2007/040280), Flometoquina, PF1364 (CAS-Reg.Nro. 1204776-60-2) (conocido a partir del documento JP2010/018586), 5-[5-(3,5-diclorofenil)-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1,2-oxazol-3-il]-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)benzonitrilo (conocido a partir del documento WO2007/075459), 5-[5-(2-cloropiridin-4-il)-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1,2-oxazol-3-il]-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)benzonitrilo (conocido a partir del documento WO2007/075459), 4-[5-(3,5-diclorofenil)-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1,2-oxazol-3-il]-2-metil-N-{2-oxo-2-[(2,2,2-trifluoroetil)amino]-etil}benzamida (conocido a partir del documento WO2005/085216), 4-{[(6-cloropiridin-3-il)metil]-(ciclopropil)amino}-1,3-oxazol-2(5H)-ona, 4-{[(6-cloropiridin-3-il)metil](2,2-difluoroetil)-amino}-1,3-oxazol-2(5H)-ona, 4-{[(6-cloropiridin-3-il)metil](etil)amino}-1,3-oxazol-2(5H)-ona, 4-{[(6-cloropiridin-3-il)metil](metil)amino}-1,3-oxazol-2(5H)-ona (todos conocidos a partir del documento WO2010/005692), NNI-0711 (conocido a partir del documento WO2002/096882), 1-acetil-N-[4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-metoxipropan-2-il)-3-isobutilfenil]-N-isobutiril-3,5-dimetil-1H-pirazol-4-carboxamida (conocido a partir del documento WO2002/096882), metil 2-[2-({[3-bromo-1-(3-cloropiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]carbonil}amino)-5-cloro-3-metilbenzoil]-2-metilhidrazinacarboxilato (conocido a partir del documento WO2005/085216), metil 2-[2-({[3-bromo-1-(3-cloropiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]carbonil}amino)-5-ciano-3-metilbenzoil]-2-etilhidrazinacarboxilato (conocido a partir del documento WO2005/085216), metil2-[2-({[3-bromo-1-(3-cloropiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]carbonil}-amino)-5-ciano-3-metilbenzoil]-2-metilhidrazinacarboxilato (conocido a partir del documento WO2005/085216), metil 2-[3,5-dibromo-2-({[3-bromo-1-(3-cloropiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]carbonil}amino)-benzoil]-1,2-dietilhidrazinacarboxilato (conocido a partir del documento WO2005/085216), metil 2-[3,5-dibromo-2-({[3-bromo-1-(3-cloropiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]carbonil}amino)benzoil]-2-etilhidrazina-carboxilato (conocido a partir del documento WO2005/085216), (5RS,7RS;5RS,7SR)-1-(6-cloro-3-piridilmetil)-1,2,3,5,6,7-hexahidro-7-metil-8-nitro-5-propoxiimidazo[1,2-a]piridina (conocido a partir del documento WO2007/101369), N-[2-(5-amino-1,3,4-tiadiazol-2-il)-4-cloro-6-metilfenil]-3-bromo-1-(3-cloro-piridin-2-il)-1H-pirazol-5-carboxamida (conocido a partir de CN102057925) y metil 2-[3,5-dibromo-2-({[3-bromo-1-(3-cloropiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]carbonil}amino)benzoil]-2-etil-1-metilhidrazinacarboxilato (conocido a partir del documento WO2011/049233).

Como ejemplo adicional, el fungicida incluye, a modo no taxativo, uno o más fungicidas que se seleccionan de los siguientes: aldimorf, azaconazol, bitertanol, bromuconazol, ciproconazol, diclobutrazol, difenoconazol, diniconazol, diniconazol-M, dodemorf, acetato de dodemorf, epoxiconazol, etaconazol, fenarimol, fenbuconazol, fenhexamida, fenpropidina, fenpropimorf, fluquinconazol, flurprimidol, flusilazol, flutriafol, furconazol, furconazol-cis, hexaconazol, imazalilo, imazalil sulfato, imibenconazol, ipconazol, metconazol, miclobutanilo, naftifina, nuarimol, oxpoconazol, paclobutrazol, pefurazoato, penconazol, piperalin, procloraz, propiconazol, protioconazol, piributicarb, pirifenox, quinconazol, simeconazol, spiroxamina, tebuconazol, terbinafina, tetraconazol, triadimefón, triadimenol, tridemorf, triflumizol, triforina, triticonazol, uniconazol, uniconazol-p, viniconazol, voriconazol, 1-(4-clorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)cicloheptanol, metil 1-(2,2-dimetil-2,3-dihidro-1H-inden-1-il)-1H-imidazol-5-carboxilato, N'-{5-(difluorometil)-2-metil-4-[3-(trimetilsilil)propoxi]fenil}-N-etil-N-metilimidoformamida, N-etil-N-metil-N'-{2-metil-5-(trifluorometil)-4-[3-(trimetilsilil)propoxi]fenil}imidoformamida, O-[1-(4-metoxifenoxi)-3,3-dimetilbutan-2-il] 1H-imidazol-1-carbotioato, bixafén, boscalid, carboxina, diflumetorim, fenfuram, fluopiram, flutolanilo, fluxapiroxad, furametpir, furmeciclox, isopirazam (mezcla de racemato sin-epimérico 1RS,4SR,9RS y racemato anti-epimérico 1RS,4SR,9SR), isopirazam (racemato anti-epimérico 1RS,4SR,9SR), isopirazam (enantiómero anti-epimérico 1R,4S,9S), isopirazam (enantiómero anti-epimérico 1S,4R,9R), isopirazam (racemato sin-epimérico 1RS,4SR,9RS), isopirazam

(enantiómero sin-epimérico 1R,4S,9R), isopirazam (enantiómero sin-epimérico 1S,4R,9S), mepronilo, oxicarboxina, penflufén, pentiopirad, sedaxano, tifluzamida, 1-metil-N-[2-(1,1,2,2-tetrafluoroetoxi)fenil]-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxamida, 3-(difluorometil)-1-metil-N-[2-(1,1,2,2-tetrafluoroetoxi)fenil]-1H-pirazol-4-carboxamida, 3-(difluorometil)-N-[4-fluoro-2-(1,1,2,3,3,3-hexafluoropropoxi)fenil]-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, N-[1-(2,4-diclorofenil)-1-metoxipropan-2-il]-3-(difluorometil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, 5,8-difluoro-N-[2-(2-fluoro-4-{[4-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi}fenil)etil]quinazolin-4-amina, N-[9-(diclorometileno)-1,2,3,4-tetrahidro-1,4-metanonaftalen-5-il]-3-(difluorometil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, N-[(1S,4R)-9-(diclorometileno)-1,2,3,4-tetrahidro-1,4-metanonaftalen-5-il]-3-(difluorometil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, N-[(1R,4S)-9-(diclorometileno)-1,2,3,4-tetrahidro-1,4-metanonaftalen-5-il]-3-(difluorometil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, ametoctradín, amisulbrom, azoxistrobín, ciazofamida, coumetoxistrobín, coumoxistrobín, dimoxistrobín, enestroburín, famoxadona, fenamidona, fenoxistrobín, fluoxastrobín, kresoxim-metilo, metominostrobín, orisastrobín, picoxistrobín, piraclostrobín, pirametostrobín, piraoxistrobín, piribencarb, triclopiricarb, trifloxistrobín, (2E)-2-(2-{[6-(3-cloro-2-metilfenoxi)-5-fluoropirimidin-4-il]oxi}fenil)-2-(metoxiimino)-N-metiletanamida, (2E)-2-(metoxiimino)-N-metil-2-(2-{[({(1E)-1-[3-(trifluorometil)fenil]etilideno}amino)oxi]metil}fenil)etanamida, (2E)-2-(metoxiimino)-N-metil-2-{2-[(E)-({1-[3-(trifluorometil)fenil]etoxi}imino)metil]fenil}etanamida, (2E)-2-{2-[({[(1E)-1-(3-{[(E)-1-fluoro-2-feniletenil]oxi}fenil)etilideno]amino}oxi)metil]fenil}-2-(metoxiimino)-N-metiletanamida, (2E)-2-{2-[({[(2E,3E)-4-(2,6-diclorofenil)but-3-en-2-ilideno]amino}oxi)metil]fenil}-2-(metoxiimino)-N-metiletanamida, 2-cloro-N-(1,1,3-trimetil-2,3-dihidro-1H-inden-4-il)piridina-3-carboxamida, 5-metoxi-2-metil-4-(2-{[({(1E)-1-[3-(trifluorometil)fenil]etilideno}amino)oxi]metil}fenil)-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-ona, metil (2E)-2-{2-[({ciclopropil[(4-metoxifenil)imino]metil}sulfanil)metil]fenil}-3-metoxiprop-2-enoato, N-(3-etil-3,5,5-trimetilciclohexil)-3-(formilamino)-2-hidroxibenzamida, 2-{2-[(2,5-dimetilfenoxi)metil]fenil}-2-metoxi-N-metilacetamida, (2R)-2-{2-[(2,5-dimetilfenoxi)metil]fenil}-2-metoxi-N-metilacetamida, benomilo, carbendazim, clorfenazol, dietofencarb, etaboxam, fluopicolida, fuberidazol, pencicurón, tiabendazol, tiofanato-metilo, tiofanato, zoxamida, 5-cloro-7-(4-metilpiperidin-1-il)-6-(2,4,6-trifluorofenil)[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidina, 3-cloro-5-(6-cloropiridin-3-il)-6-metil-4-(2,4,6-trifluorofenil)piridazina, mezcla bordeaux, captafol, captán, clorotalonilo, hidróxido de cobre, naftenato de cobre, óxido de cobre, oxicloruro de cobre, sulfato de cobre(2+), diclofluanid, ditianón, dodina, base libre de dodina, ferbam, fluorofolpet, folpet, guazatina, acetato de guazatina, iminoctadina, iminoctadina albesilato, triacetato de iminoctadina, mancobre, mancozeb, maneb, metiram, metiram zinc, oxina-cobre, propamidina, propineb, azufre, preparaciones de azufre que incluyen polisulfuro de calcio, tiram, tolilfluanid, zineb, ziram, acibenzolar-S-metilo, isotianilo, probenazol, tiadinilo, andoprim, blasticidina-S, ciprodinilo, kasugamicina, kasugamicina clorhidrato hidrato, mepanipirim, pirimetanilo, 3-(5-fluoro-3,3,4,4-tetrametil-3,4-dihidroisoquinolin-1-il)quinolina, acetato de fentina, fentina cloruro, fentina hidróxido, siltiofam, bentiavalicarb, dimetomorf, flumorf, iprovalicarb, mandipropamida, polioxinas, polioxorim, validamicina A, valifenalato, bifenilo, cloroneb, diclorán, edifenfós, etridiazol, yodocarb, iprobenfós, isoprotiolano, propamocarb, propamocarb clorhidrato, protiocarb, pirazofós, quintoceno, tecnaceno tolclofós-metilo, carpropamida, diclocimet, fenoxanilo, ftalida, piroquilón, triciclazol, 2,2,2-trifluoroetil {3-metil-1-[(4-metilbenzoil)amino]butan-2-il}carbamato, benalaxilo, benalaxil-M (kiralaxil), bupirimato, clozilacón, dimetirimol, etirimol, furalaxilo, himexazol, metalaxilo, metalaxil-M (mefenoxam), ofurace, oxadixilo, ácido oxolínico, clozolinato, fenpiclonilo, fludioxonilo, iprodiona, procimidona, quinoxifén, vinclozolilo, binapacrilo, dinocap, ferimzona, fluazinam, meptildinocap, bentiazol, betoxazina, capsimicina, carvona, Quinometionato, piriofenona (clazafenona), cufraneb, ciflufenamida, cimoxanilo, ciprosulfamida, dazomet, debacarb, diclorofén, diclomezina, difenzoquat, difenzoquat metilsulfato, difenilamina, ecomato, fenpirazamina, flumetover, fluoroimida, flusulfamida, flutianilo, fosetil-aluminio, fosetil-calcio, fosetil-sodio, hexaclorobenceno, irumamicina, metasulfocarb, metil isotiocianato, metrafenona, mildiomicina, natamicina, níquel dimetilditiocarbamato, nitrotal-isopropilo, octilinona, oxamocarb, oxifentiína, pentaclorofenol y sales, fenotrina, ácido fosforoso y sus sales, propamocarb-fosetilato, propanosina-sodio, proquinazid, pirimorf, (2E)-3-(4-terc-butilfenil)-3-(2-cloropiridin-4-il)-1-(morfolin-4-il)prop-2-en-1-ona, (2Z)-3-(4-terc-butilfenil)-3-(2-cloropiridin-4-il)-1-(morfolin-4-il)prop-2-en-1-ona, pirrolnitrina, tebufloquina, tecloftalam, tolnifanida, triazóxido, triclamida, zarilamida, (3S,6S,7R,8R)-8-bencil-3-[({3-[(isobutiriloxi)metoxi]-4-metoxipiridin-2-il}carbonil)amino]-6-metil-4,9-dioxo-1,5-dioxonan-7-il 2-metilpropanoato, 1-(4-{4-[(5R)-5-(2,6-difluorofenil)-4,5-dihidro-1,2-oxazol-3-il]-1,3-tiazol-2-il}piperidin-1-il)-2-[5-metil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il]etanona, 1-(4-{4-[(5S)-5-(2,6-difluorofenil)-4,5-dihidro-1,2-oxazol-3-il]-1,3-tiazol-2-il}piperidin-1-il)-2-[5-metil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il]etanona, 1-(4-{4-[5-(2,6-difluorofenil)-4,5-dihidro-1,2-oxazol-3-il]-1,3-tiazol-2-il}piperidin-1-il)-2-[5-metil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il]etanona, 1-(4-metoxifenoxi)-3,3-dimetilbutan-2-il 1H-imidazol-1-carboxilato, 2,3,5,6-tetracloro-4-(metilsulfonil)piridina, 2,3-dibutil-6-clorotieno[2,3-d]pirimidin-4(3H)-ona, 2,6-dimetil-1H,5H-[1,4]ditiino[2,3-c:5,6-c']dipirrol-1,3,5,7(2H,6H)-tetrona, 2-[5-metil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il]-1-(4-{4-[(5R)-5-fenil-4,5-dihidro-1,2-oxazol-3-il]-1,3-tiazol-2-il}piperidin-1-il)etanona, 2-[5-metil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il]-1-(4-{4-[(5S)-5-fenil-4,5-dihidro-1,2-oxazol-3-il]-1,3-tiazol-2-il}piperidin-1-il)etanona, 2-[5-metil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il]-1-{4-[4-(5-fenil-4,5-dihidro-1,2-oxazol-3-il)-1,3-tiazol-2-il]piperidin-1-il}etanona, 2-butoxi-6-yodo-3-propil-4H-cromen-4-ona, 2-cloro-5-[2-cloro-1-(2,6-difluoro-4-metoxifenil)-4-metil-1H-imidazol-5-il]piridina, 2-fenilfenol y sales, 3-(4,4,5-trifluoro-3,3-dimetil-3,4-dihidroisoquinolin-1-il)quinolina, 3,4,5-tricloropiridina-2,6-dicarbonitrilo, 3-[5-(4-clorofenil)-2,3-dimetil-1,2-oxazolidin-3-il]piridina, 3-cloro-5-(4-clorofenil)-4-(2,6-difluorofenil)-6-metilpiridazina, 4-(4-clorofenil)-5-(2,6-difluorofenil)-3,6-dimetilpiridazina, 5-amino-1,3,4-tiadiazol-2-tiol, 5-cloro-N'-fenil-N'-(prop-2-in-1-il)tiofeno-2-sulfonohidrazida, 5-fluoro-2-[(4-fluorobencil)oxi]pirimidin-4-amina, 5-fluoro-2-[(4-metilbencil)oxi]pirimidin-4-amina, 5-metil-6-octil[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidin-7-amina, etil (2Z)-3-amino-2-ciano-3-fenilprop-2-enoato, N'-(4-{[3-(4-clorobencil)-1,2,4-tiadiazol-5-il]oxi}-2,5-dimetilfenil)-N-etil-N-metilimidoformamida, N-(4-clorobencil)-3-[3-metoxi-4-(prop-2-in-1-iloxi)fenil]propanamida, N-[(4-clorofenil)(ciano)metil]-3-[3-metoxi-4-(prop-2-in-1-iloxi)fenil]propanamida, N-[(5-bromo-3-cloropiridin-2-il)metil]-2,4-dicloropiridina-3-carboxamida, N-[1-(5-bromo-3-cloropiridin-2-il)etil]-2,4-dicloropiridina-3-carboxamida, N-[1-(5-bromo-

3-cloropiridin-2-il)etil]-2-fluoro-4-yodopiridina-3-carboxamida, N-{(E)-[(ciclopropilmetoxi)imino][6-(difluorometoxi)-2,3-difluorofenil]metil}-2-fenilacetamida, N-{(Z)-[(ciclopropilmetoxi)imino][6-(difluorometoxi)-2,3-difluorofenil]metil}-2-fenilacetamida, N'-{4-[(3-terc-butil-4-ciano-1,2-tiazol-5-il)oxi]-2-cloro-5-metilfenil}-N-etil-N-metilimidoformamida, N-metil-2-(1-{[5-metil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il]acetil}piperidin-4-il)-N-(1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-il)-1,3-tiazol-4-carboxamida, N-metil-2-(1-{[5-metil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il]acetil}piperidin-4-il)-N-[(1R)-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-il]-1,3-tiazol-4-carboxamida, N-metil-2-(1-{[5-metil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il]acetil}piperidin-4-il)-N-[(1S)-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-il]-1,3-tiazol-4-carboxamida, pentil {6-[({[(1-metil-1H-tetrazol-5-il)(fenil)metilideno]amino}oxi)metil]piridin-2-il}carbamato, ácido fenazina-1-carboxílico, quinolin-8-ol, quinolin-8-ol sulfato (2:1), terc-butil {6-[({[(1-metil-1H-tetrazol-5-il)(fenil)metileno]amino}oxi)metil]piridin-2-il}carbamato, 1-metil-3-(trifluorometil)-N-[2'-(trifluorometil)bifenil-2-il]-1H-pirazol-4-carboxamida, N-(4'-clorobifenil-2-il)-3-(difluorometil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, N-(2',4'-diclorobifenil-2-il)-3-(difluorometil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, 3-(difluorometil)-1-metil-N-[4'-(trifluorometil)bifenil-2-il]-1H-pirazol-4-carboxamida, N-(2',5'-difluorobifenil-2-il)-1-metil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxamida, 3-(difluorometil)-1-metil-N-[4'-(prop-1-in-1-il)bifenil-2-il]-1H-pirazol-4-carboxamida, 5-fluoro-1,3-dimetil-N-[4'-(prop-1-in-1-il)bifenil-2-il]-1H-pirazol-4-carboxamida, 2-cloro-N-[4'-(prop-1-in-1-il)bifenil-2-il]piridina-3-carboxamida, 3-(difluorometil)-N-[4'-(3,3-dimetilbut-1-in-1-il)bifenil-2-il]-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, N-[4'-(3,3-dimetilbut-1-in-1-il)bifenil-2-il]-5-fluoro-1,3-dimetil-1H-pirazol-4-carboxamida, 3-(difluorometil)-N-(4'-etinilbifenil-2-il)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, N-(4'-etinilbifenil-2-il)-5-fluoro-1,3-dimetil-1H-pirazol-4-carboxamida, 2-cloro-N-(4'-etinilbifenil-2-il)piridina-3-carboxamida, 2-cloro-N-[4'-(3,3-dimetilbut-1-in-1-il)bifenil-2-il]piridina-3-carboxamida, 4-(difluorometil)-2-metil-N-[4'-(trifluorometil)bifenil-2-il]-1,3-tiazol-5-carboxamida, 5-fluoro-N-[4'-(3-hidroxi-3-metilbut-1-in-1-il)bifenil-2-il]-1,3-dimetil-1H-pirazol-4-carboxamida, 2-cloro-N-[4'-(3-hidroxi-3-metilbut-1-in-1-il)bifenil-2-il]piridina-3-carboxamida, 3-(difluorometil)-N-[4'-(3-metoxi-3-metilbut-1-in-1-il)bifenil-2-il]-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, 5-fluoro-N-[4'-(3-metoxi-3-metilbut-1-in-1-il)bifenil-2-il]-1,3-dimetil-1H-pirazol-4-carboxamida, 2-cloro-N-[4'-(3-metoxi-3-metilbut-1-in-1-il)bifenil-2-il]piridina-3-carboxamida, (5-bromo-2-metoxi-4-metilpiridin-3-il)(2,3,4-trimetoxi-6-metilfenil)metanona, N-[2-(4-{[3-(4-clorofenil)prop-2-in-1-il]oxi}-3-metoxifenil)etil]-N2-(metilsulfonil)valinamida, ácido 4-oxo-4-[(2-feniletil)amino]butanoico, but-3-in-1-il {6-[({[(Z)-(1-metil-1H-tetrazol-5-il)(fenil)metileno]amino}oxi)metil]piridin-2-il}carbamato.

Como ejemplo adicional, el pesticida adicional puede ser uno o más herbicidas que se seleccionan del grupo que consiste en: acetoclor, acifluorfén, acifluorfén-sodio, aclonifén, alacloro, alidocloro, aloxidim, aloxidim-sodio, ametrina, amicarbazona, amidocloro, amidosulfurón, aminociclopiracloro, aminociclopiraclor-potasio, aminociclopiraclor-metilo, aminopiralid, amitrol, amoniosulfamato, anilofós, asulam, atrazina, azafenidina, azimsulfurón, beflubutamida, benazolina, benazolina-etilo, benfluralina, benfuresato, bensulfurón, bensulfurón-metilo, bensulida, bentazona, benzobiciclón, benzofenap, biciclopirona, bifenox, bilanafós, bilanafós-sodio, bispiribac, bispiribac-sodio, bromacilo, bromobutida, bromofenoxim, bromoxinilo, bromoxinil-butirato, -potasio, -heptanoato y -octanoato, busoxinona, butacloro, butafenacilo, butamifós, butenacloro, butralina, butroxidim, butilato, cafenstrol, carbetamida, carfentrazona, carfentrazona-etilo, clorambén, clorbromurón, clorfenac, clorfenac-sodio, clorfenprop, clorflurenol, clorflurenol-metilo, cloridazón, clorimurón, clorimurón-etilo, cloroftalim, clorotolurón, clortal-dimetilo, clorsulfurón, cinidón, cinidón-etilo, cinmetilina, cinosulfurón, cletodim, clodinafop, clodinafop-propargilo, clomazona, clomeprop, clopiralid, cloransulam, cloransulam-metilo, cumilurón, cianamida, cianazina, cicloato, ciclosulfamurón, cicloxidim, cihalofop, cihalofop-butilo, ciprazina, 2,4-D, 2,4-D-butotilo, -butilo, -dimetilamonio, -diolamina, -etilo, 2-etilhexilo, dazomet, -isobutilo, -isooctilo, -isopropilamonio, -potasio, -triisopropanolamonio y -trolamina, 2,4-DB, 2,4-DB-butilo, -dimetilamonio, isooctilo, -potasio y -sodio, daimurón (dimrón), dalapón, n-decanol, desmedifam, detosil-pirazolato (DTP), dicamba, diclobenilo, diclorprop, diclorprop-P, diclofop, diclofop-metilo, diclofop-P-metilo, diclosulam, difenzoquat, diflufenican, diflufenzopir, diflufenzopir-sodio, dimefurón, dimepiperato, dimetacloro, dimetametrina, dimetenamida, dimetenamid-P, dimetrasulfurón, dinitramina, dinoterb, difenamida, diquat, diquat-dibromid, ditiopir, diurón, DNOC, endotal, EPTC, esprocarb, etalfluralina, etametsulfurón, etametsulfurón-metilo, etiozina, etofumesato, etoxifén, etoxifén-etilo, etoxisulfurón, etobenzanid, F-5231, es decir, N-{2-cloro-4-fluoro-5-[4-(3-fluoropropil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-tetrazol-1-il]fenil}etanosulfonamida, F-7967, es decir, 3-[7-cloro-5-fluoro-2-(trifluorometil)-1H-bencimidazol-4-il]-1-metil-6-(trifluorometil)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona, fenoxaprop, fenoxaprop-P, fenoxaprop-etilo, fenoxaprop-P-etilo, fenoxasulfona, fentrazamida, flamprop, flamprop-M-isopropilo, flamprop-M-metilo, flazasulfurón, florasulam, fluazifop, fluazifop-P, fluazifop-butilo, fluazifop-P-butilo, flucarbazona, flucarbazona-sodio, flucetosulfurón, flucloralin, flufenacet (tiafluamida), flufenpir, flufenpir-etilo, flumetsulam, flumiclorac, flumiclorac-pentilo, flumioxazina, fluometurón, flurenol, flurenol-butilo, -dimetilamonio y -metilo, fluoroglicofén, fluoroglicofén-etilo, flupropanato, flupirsulfurón, flupirsulfurón-metil-sodio, fluridona, flurocloridona, fluroxipir, fluroxipir-meptilo, flurtamona, flutiacet, flutiacet-metilo, flutiamida, fomesafén, fomesafén-sodio, foramsulfurón, fosamina, glufosinato, glufosinato-amonio, glufosinato-P-sodio, glufosinato-P-amonio, glufosinato-P-sodio, glifosato, glifosato-amonio, -isopropilamonio, -diamonio, -dimetilamonio, -potasio, -sodio y -trimesio, H-9201, es decir, O-(2,4-dimetil-6-nitrofenil) O-etil isopropilfosforamidotioato, halosafén, halosulfurón, halosulfurón-metilo, haloxifop, haloxifop-P, haloxifop-etoxietilo, haloxifop-P-etoxietilo, haloxifop-metilo, haloxifop-P-metilo, hexazinona, HW-02, es decir, 1-(dimetoxifosforil) etil-(2,4-diclorofenoxi)acetato, imazametabenz, imazametabenz-metilo, imazamox, imazamox-amonio, imazapic, imazapic-amonio, imazapir, imazapir-isopropilamonio, imazaquín, imazaquín-amonio, imazetapir, imazetapir-amonio, imazosulfurón, indanofán, indaziflam, yodosulfurón, yodosulfurón-metil-sodio, ioxinilo, ioxinil-octanoato, -potasio y sodio, ipfencarbazona, isoproturón, isourón, isoxabén, isoxaflutol, karbutilato, KUH-043, es decir, 3-({[5-(difluorometil)-1-metil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il]metil}sulfonil)-5,5-dimetil-4,5-dihidro-1,2-oxazol, ketospiradox, lactofén, kenacilo, kinurón, MCPA, MCPA-butotilo, -dimetilamonio, -2-etilhexilo, -isopropilamonio, -potasio y -sodio, MCPB, MCPB-metilo, -etilo y -sodio, mecoprop, mecoprop-sodio, y -butotilo, mecoprop-P, mecoprop-P-butotilo, dimetilamonio, -2-etilhexil y -potasio, mefenacet,

mefluidida, mesosulfurón, mesosulfurón-metilo, mesotriona, metabenztiazurón, metam, metamifop, metamitron, metazacloro, metazosulfurón, metabenztiazurón, metiopirsulfurón, metiozolin, metil isotiocianato, metobromurón, metolacloro, S-metolacloro, metosulam, metoxurón, metribuzin, metsulfurón, metsulfurón-metilo, molinat, monolinurón, monosulfurón, monosulfurón-éster, MT-128, es decir, 6-cloro-N-[(2E)-3-cloroprop-2-en-1-il]-5-metil-N-fenilpiridazin-3-amina, MT-5950, es decir, N-(3-cloro-4-isopropilfenil)-2-metilpentan amida, NGGC-011, napropamida, NC-310, es decir, [5-(benciloxi)-1-metil-1H-pirazol-4-il](2,4-diclorofenil)metanona, neburón, nicosulfurón, ácido nonanoico (ácido pelargónico), norflurazón, ácido oleico (ácidos grasos), orbencarb, ortosulfamurón, orizalina, oxadiargilo, oxadiazón, oxasulfurón, oxaziclomefón, oxifluorfén, paraquat, dicloruro de paraquat, pebulato, pendimetalina, penoxsulam, pentaclorfenol, pentoxazona, petoxamida, aceites de petróleo, fenmedifam, picloram, picolinafén, pinoxadén, piperofós, pretilacloro, primisulfurón, primisulfurón-metilo, prodiamina, prifluralina, profoxidim, prometón, prometrina, propacloro, propanilo, propaquizafop, propazina, profam, propisocloro, propoxicarbazona, propoxicarbazona-sodio, propirisulfurón, propizamida, prosulfocarb, prosulfurón, piraclonilo, piraflufén, piraflufén-etilo, pirasulfotol, pirazolinato (pirazolato), pirazosulfurón, pirazosulfurón-etilo, pirazoxifén, piribambenz, piribambenz-isopropilo, piribambenz-propilo, piribenzoxim, piributicarb, piridafol, piridato, piriftalid, piriminobac, piriminobac-metilo, pirimisulfán, piritiobac, piritiobac-sodio, piroxasulfona, piroxsulam, quinclorac, quinmerac, quinoclamina, quizalofop, quizalofop-etilo, quizalofop-P, quizalofop-P-etilo, quizalofop-P-tefurilo, rimsulfurón, saflufenacilo, setoxidim, sidurón, simazina, simetrina, sulcotrión, sulfentrazona, sulfometurón, sulfometurón-metilo, sulfosulfurón, SW-065, SIN-523, SYP-249, es decir, 1-etoxi-3-metil-1-oxobut-3-en-2-il 5-[2-cloro-4-(trifluorometil)fenoxi]-2-nitrobenzoato, SYP-300, es decir, 1-[7-fluoro-3-oxo-4-(prop-2-in-1-il)-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-6-il]-3-propil-2-tioxoimidazolidina-4,5-diona, 2,3,6-TBA, TCA (ácido tricloroacético), TCA-sodio, tebutiurón, tefuriltriona, tembotriona, tepraloxidim, terbacilo, terbucarb, terbumetón, terbutilazin, terbutrina, tenilcloro, tiazopir, tiencarbazona, tiencarbazona-metilo, tifensulfurón, tifensulfurón-metilo, tiobencarb, topramezona, tralkoxidim, triafamona, tri-alato, triasulfurón, triaziflam, tribenurón, tribenurón-metilo, triclopir, trietazina, trifloxisulfurón, trifloxisulfurón-sodio, trifluralin, triflusulfurón, triflusulfurón-metilo, tritosulfurón, urea sulfato, vernolato, ZJ-0862, es decir, 3,4-dicloro-N-{2-[(4,6-dimetoxipirimidin-2-il)oxi]bencil}anilina; o reguladores del crecimiento vegetal que se seleccionan del grupo que consiste en zcibenzolar, acibenzolar-S-metilo, ácido 5-aminolevulínico, ancimidol, 6-bencilaminopurina, brasinolida, catequina, cloruro de clormequat, cloprop, ciclanilida, ácido 3-(cicloprop-1-enil)propiónico, daminozida, dazomet, n-decanol, dikegulac, dikegulac-sodio, endotal, endotal-dipotasio, -disodio y mono(N,N-dimetilalquilamonio), etefón, flumetralina, flurenol, flurenol-butilo, flurprimidol, forclorfenurón, ácido giberélico, inabenfida, ácido indol-3-acético (IAA), ácido 4-indol-3-ilbutírico, isoprotiolano, probenazol, ácido jasmónico, hidrazida maleica, cloruro de mepiquat, 1-metilciclopropeno, metil jasmonato, 2-(1-naftil)acetamida, ácido 1-naftilacético, ácido 2- naftiloxiacético, mezcla de nitrofenolato, paclobutrazol, N-(2-feniletil)-beta-alanina, ácido N-fenilftalámico, prohexadiona, prohexadiona-calcio, prohidrojasmona, ácido salicílico, estrigolactona, tecnaceno, tidiazurón, triacontanol, trinexapac, trinexapac-etilo, tsitodef, uniconazol, uniconazol-P; o sales u otras formas agroquímicamente preferibles de estos.

En un aspecto preferido, la composición herbicida aplicada a la ubicación comprende, además, glifosato y/o glufosinato.

De esta forma, dependiendo de la naturaleza de los herbicidas en la composición herbicida, dicha composición puede aplicarse a la ubicación en una aplicación preplantación, preemergencia y/o posemergencia. “Preplantación” significa que la composición herbicida se aplica antes de que el cultivo se plante en el lugar, “preemergencia” significa que la composición herbicida se aplica antes de que la semilla de la planta de cultivo en germinación emerja por encima de la superficie del lugar y “posemergencia” significa que la composición herbicida se aplica una vez que la planta de cultivo es visible por encima de la superficie del lugar. Estos patrones de uso individual pueden aplicarse al lugar solos o en cualquier combinación. Por ejemplo, el patrón de uso podría comprender una aplicación preplantación con una posterior aplicación posemergencia.

Muchas especies de malezas pueden controlarse (es decir, matarse o dañarse) con la o las composiciones herbicidas descritas en la presente. Por lo tanto, los métodos son útiles para controlar estas especies vegetales cuando no se desean (es decir, cuando son malezas). Estas especies vegetales incluyen plantas de cultivo, así como especies comúnmente consideradas malezas, incluidas, a modo no taxativo, especies tales como: pasto negro (*Alopecurus myosuroides*), cola de zorro gigante (*Setaria faberi*), pasto blanco (*Digitaria sanguinalis*), pasto alambre (*Brachiaria decumbens*), avena silvestre (*Avenafatua*), bardana común (*Xanthium pensylvanicum*), cenizo blanco (*Chenopodium album*), gloria de la mañana (*Ipomoea spp.* y muchas otras especies de *Ipomoea* incluidas *hederacea, grandifolia*), amaranto (*Amaranthus spp*.), hoja terciopelo (*Abutilion theophrasti*), pasto dentado (*Echinochloa crus-galli*), *pasto bermuda* (*Cynodon dactylon*), espiguilla colgante (*Bromus tectorum*), Pasto de ganso (*Eleusine indica*), cola de zorro verde (*Setaria viridis*), raigrás italiano (*Lolium multiflorum*), pasto Johnson (*Sorghum halepense*), alpistillo (*Phalaris minor*), espiga de viento (*Apera spica-venti*), paspalo velloso (*Erichloa villosa*), chufa amarilla (*Cyperus esculentus*), Hierba de gallina (*Stellaria media*), ambrosía común, ambrosía gigante (*Ambrosia artemisiifolia*), (*Ambrosia trifida*), *Kochia scoparia*, cola de caballo (*Conyza canadensis*), raigrás rígido (*Lolium rigidum*), pasto de ganso (*Eleucine indica*), rama negra (*Conyza bonariensis*), llantén menor (*Plantago lanceolata*), flor de día de Bengala (*Commelina benghalensis*), correhuela (*Convolvulus arvensis*), chufa púrpura (*Cyperus rotundus*), zarcillos de la vid (*Brunnichia ovata*), sesbania de cáñamo (*Sesbania exaltata*), frijolillo (*Senna obtusifolia*), hierba amargosa (*Helianthus ciliaris*), pasto colchón (*Panicum dichotomiflorum*), pasto tejano (*Panicum texanum*), pasto de hoja ancha (*Brachiaria*) y garra del diablo (*Proboscidea louisianica*). En otros aspectos de la invención, la

maleza comprende un raigrás resistente a herbicidas, por ejemplo, un raigrás resistente a glifosato, un raigrás resistente a paraquat, un raigrás resistente inhibidor de ACCasa y un raigrás resistente a herbicidas no selectivos.

En otro aspecto de la divulgación, se proporcionan métodos para controlar las plantas de cultivo de SYHT0H2 voluntarias en una ubicación, donde los métodos comprenden aplicar a la ubicación uno o más herbicidas efectivos para la soja y presentan un modo de acción que no es la inhibición de HPPD.

En otro aspecto de la divulgación, se proporcionan métodos para controlar los eventos transgénicos voluntarios en una ubicación, que comprenden plantas de cultivo con SYHT0H2, donde los eventos voluntarios ofrecen resistencia a uno o más herbicidas, pero no ofrecen resistencia a los inhibidores de HPPD, donde los métodos comprenden aplicar a la ubicación una cantidad de una composición herbicida de control que comprende uno o más inhibidores de HPPD.

En otro aspecto de la divulgación se proporcionan métodos para aplicar mezclas herbicidas en una ubicación, en donde la mezcla herbicida comprende un inhibidor de HPPD y al menos un químico adicional que puede no ser tolerado por SYHT0H2 a efectos del control de plagas (malezas, enfermedades, insectos, nematodos), en donde la presencia del evento SYHT0H2 permite la aplicación de esta mezcla ya sea preplantación o preemergencia a través de la protección contra la actividad residual de HPPD. Por ejemplo, en un aspecto, un herbicida de quemado típico, tal como paraquat, se aplica a la ubicación en una aplicación de tipo quemado preplantación o preemergencia en combinación con un inhibidor de HPPD.

En otros aspectos de la invención, se utilizan plantas con SYHT0H2 para mejorar la producción. Por ejemplo, el evento de soja SYHT0H2 muestra un aumento de producción cuando se pulveriza con mesotriona preemergencia o en una etapa vegetativa temprana en comparación con el evento sin pulverizar. Por ejemplo, el evento SYHT0H2 de la soja que recibe una aplicación 2X de mesotriona preemergencia o en etapas vegetativas pueden mostrar un mayor rendimiento que el evento sin pulverizar. En consecuencia, se proporcionan métodos para mejorar la producción de plantas mediante la aplicación a una planta de soja, que comprende el evento SYHT0H2, de una cantidad de un inhibidor de HPPD para promover el crecimiento y mejorar así la producción independientemente de la presión de la maleza. El inhibidor de HPPD puede ser mesotriona u otros inhibidores de HPPD. Tal como se utiliza en la presente, la expresión “cantidad apropiada para promover el crecimiento” significa una cantidad de un herbicida inhibidor de HPPD suficiente para aumentar la producción de las plantas, al menos aproximadamente al doble, por ejemplo, al menos aproximadamente cinco veces, al menos aproximadamente diez veces, al menos aproximadamente veinte veces, al menos aproximadamente cincuenta veces, al menos aproximadamente cien veces, o más, en comparación con las plantas con SYHT0H2 que no se pulverizan con un herbicida inhibidor de HPPD. La expresión “cantidad apropiada para promover el crecimiento” también puede significar una cantidad de un herbicida inhibidor de HPPD suficiente para aumentar la producción de las plantas, al menos aproximadamente 5%, por ejemplo, al menos aproximadamente 10%, al menos aproximadamente 20%, al menos aproximadamente 30%, al menos aproximadamente 40%, al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 100%, o más, en comparación con plantas con SYHT0H2 que no se pulverizan con un herbicida inhibidor de HPPD.

En algunos aspectos de la invención, los métodos implican tratar una planta de la invención y/o un área de interés (por ejemplo, un campo o área de cultivo) y/o maleza solo con un herbicida u otro químico, tal como, por ejemplo, un inhibidor de HPPD.

Los métodos también abarcan el uso de aplicaciones simultáneas y/o secuenciales de múltiples clases de herbicidas. En particular, el inserto heterólogo que contiene la secuencia de HPPD de *Avena* también incluye una secuencia de fosfinotricina acetil transferasa (PAT) que confiere resistencia a los inhibidores de glutamina sintetasa tales como glufosinato (denominados también fosfinotricina). La fosfinotricina (PTC, ácido 2-amino-4-metilfosfinobutírico) es una unidad estructural del antibiótico fosfinotricilalanil-alanina producido por la cepa *Streptomyces viridochromogenes* Tu 494 (DSM 40736, DSM 4112). El antibiótico es activo contra bacterias Gram positivas y Gram negativas como el hongo *Botrytis cinerea*. La PTC también actúa con un herbicida efectivo. Por lo tanto, el evento SYHT0H2 puede usarse en combinación con inhibidores de glutamina sintetasa, tales como glufosinato. Los herbicidas de glufosinato representativos se comercializan como BASTA®, LIBERTY®, RELY®, CHALLENGE®, IGNITE® y FINALE®.

Diferentes químicos, tales como los herbicidas, tienen diferentes efectos “residuales”, es decir, diferentes períodos de tiempo en que el tratamiento con el químico o herbicida mantiene el efecto sobre las plantas que crecen en el área tratada. Tales efectos pueden ser deseables o no, según el propósito que se desea a futuro para el área tratada (por ejemplo, si se trata de un campo o área de cultivo). Así pues, se puede elegir un esquema de rotación de cultivos en función de los efectos residuales de los tratamientos que se utilizarán para cada cultivo y su efecto en el cultivo que posteriormente se plantará en la misma área. Los expertos en la técnica conocen las técnicas que se pueden utilizar para evaluar el efecto residual de un herbicida; por ejemplo, en general, el glifosato tiene muy poca o ninguna actividad residual en el suelo, mientras que los herbicidas que actúan para inhibir HPPD presentan diferentes niveles de actividad residual. En la técnica se conocen las actividades residuales de los diversos herbicidas y se sabe que varían según los diferentes factores ambientales como, por ejemplo, niveles de humedad

del suelo, temperatura, pH y composición del suelo (textura y materia orgánica). Las plantas de soja con SYHT0H2 han sido particularmente útiles en los métodos de cultivo donde resulta beneficiosa una mejor tolerancia a la actividad residual de un herbicida.

Por ejemplo, en un aspecto de la invención, las plantas de soja con SYHT0H2 se plantan para reducir el riesgo de daños ocasionados por los efectos residuales de los herbicidas de HPPD utilizados en el cultivo anterior como, por ejemplo, cuando se utilizan bicicolopirona y topramezona en un cultivo de maíz durante la plantación anterior.

Por ejemplo, en un aspecto de la invención, las plantas de soja con SYHT0H2 presentan una mejor tolerancia a los químicos inhibidores de HPPD cuando se aplican en forma individual, y además ofrecen una mejor tolerancia a las combinaciones de herbicidas. Más aún, las plantas transgénicas descritas en la presente ofrecen una mejor tolerancia al tratamiento con químicos adicionales que se utilizan comúnmente en los cultivos junto con tratamientos herbicidas, como protectores, adyuvantes como tensioactivos no iónicos, tensioactivos iónicos, sulfato de amonio y concentrado de aceite de cultivo y similares.

El término “protector” se refiere a una sustancia que cuando se agrega a una formulación herbicida, aplicada a una semilla de cultivo o aplicada al suelo elimina o reduce los efectos fitotóxicos del herbicida a determinados cultivos. Los expertos en la técnica podrán apreciar que la elección del protector depende, en parte, de la planta del cultivo en cuestión y el herbicida particular o las combinaciones de herbicidas incluidas en la composición del herbicida sinergística. Los ejemplos de protectores apropiados para utilizar con las composiciones herbicidas de la presente memoria incluyen, a modo no taxativo, las descritas en las Patentes de los Estados Unidos Nros. 4.808.208; 5.502.025; 6.124.240 y las Publicaciones de Solicitud de Patente de los Estados Unidos Nros. 2006/0148647; 2006/0030485; 2005/0233904; 2005/0049145; 2004/0224849; 2004/0224848; 2004/0224844; 2004/0157737; 2004/0018940; 2003/0171220; 2003/0130120; 2003/0078167. Los métodos pueden implicar el uso de herbicidas en combinación con protectores contra herbicidas como benoxacor, BCS (l-bromo-4-[(clorometil)sulfonilbenceno), cloquintocet-mexilo, ciometrinil, diclormid, 2- (diclorometil)-2-metil-1,3-dioxolano (MG 191), fenclorazol-etilo, fenclorim, flurazol, fluxofenim, furilazol, isoxadifén-etilo, mefenpir-dietilo, metoxifenona ((4-metoxi-3-metilfenil)(3-metilfenil)-metanona), anhídrido naftálico (anhídrido 1,8-naftálico), ciprosulfamida, N-(2-metoxibenzoil)-4-[(metilaminocarbonil)amino]bencenosulfonamida y oxabetrinil para aumentar la seguridad del cultivo. Se puede aplicar una cantidad eficaz como antídoto de los protectores contra herbicidas al mismo tiempo que los compuestos, o aplicar tratamientos a las semillas o el suelo. Por tanto, un aspecto de la presente invención se refiere al uso de una mezcla que comprende un herbicida inhibidor de HPPD, al menos otro herbicida y una cantidad efectiva como antídoto de un protector contra herbicidas.

El tratamiento de las semillas con protectores contra herbicidas es particularmente útil para el control selectivo de la maleza, porque restringe físicamente la aplicación del antídoto a las plantas de cultivo. Por lo tanto, otro aspecto útil de la invención es un método para controlar en forma selectiva el crecimiento de malezas en un campo, que comprende tratar la semilla a partir de la cual crece el cultivo con una cantidad de protector efectiva como antídoto y tratar el campo con una cantidad efectiva de herbicida para controlar las malezas. Los expertos en la técnica pueden determinar fácilmente las cantidades efectivas como antídoto de los protectores a través de la simple experimentación. Una cantidad efectiva como antídoto de un protector está presente cuando una planta determinada se somete a tratamiento con el protector de forma que se disminuya el efecto del herbicida en la planta en comparación con el efecto del herbicida en una planta que no se sometió a tratamiento con el protector; en general, una cantidad efectiva como antídoto del protector evita daños comunes o graves a las plantas tratadas con el protector. Los expertos en la técnica podrán determinar si es apropiado el uso de un protector y determinar la dosis en la que un protector se debe administrar al cultivo. En un aspecto, se someten a tratamiento las semillas que comprenden el evento SYHT0H2. Los químicos descritos a continuación se incluyen como ejemplos, a modo no taxativo, de posibles tratamientos de las semillas:

Alanicarb, Aldicarb, Bendiocarb, Benfuracarb, Butocarboxim, Butoxicarboxim, Carbarilo, Carbofurano, Carbosulfán, Etiofencarb, Fenobucarb, Formetanato, Furatiocarb, Isoprocarb, Metiocarb, Metomilo, Metolcarb, Oxamilo, Pirimicarb, Propoxur, Tiodicarb, Tiofanox, Triazamato, Trimetacarb, XMC, Xililcarb; Acefato, Azametifós, Azinfós-etilo, Azinfós-metilo, Cadusafós, Cloretoxifós, Clorfenvinfós, Clormefós, Clorpirifós, Clorpirifós-metilo, Coumafós, Cianofós, Demetón-S-metilo, Diazinón, Diclorvós/DDVP, Dicrotofós, Dimetoato, Dimetilvinfós, Disulfotón, EPN, Etión, Etoprofós, Famfur, Fenamifós, Fenitrotión, Fentión, Fostiazato, Heptenofós, Imiciafós, Isofenfós, Isopropil O-(metoxiaminotio-fosforil) salicilato, Isoxatión, Malatión, Mecarbam, Metamidofós, Metidatión, Mevinfós, Monocrotofós, Naled, Ometoato, Oxidometón-metilo, Paratión, Paratión-metilo, Fentoato, Forato, Fosalona, Fosmet, Fosfamidón, Foxim, Pirimifós-metilo, Profenofós, Propetamfós, Protiofós, Piraclofós, Piridafentión, Quinalfós, Sulfotep, Tebupirimfós, Temefós, Terbufós, Tetraclorvinfós, Tiometón, Triazofós, Triclorfón, Vamidotión, organocloros de ciclodieno, Clordano, Endosulfán; Etiprol, Fipronilo, Acrinatrina, Aletrina, d-cis-trans Aletrina, d-trans Aletrina, Bifentrina, Bioaletrina, Isómero de bioaletrina S-ciclopentenilo, Bioresmetrina, Cicloprotrina, Ciflutrina, beta-Ciflutrina, Cihalotrina, lambda-Cihalotrina, gamma-Cihalotrina, Cipermetrina, alfa-Cipermetrina, beta-Cipermetrina, theta-Cipermetrina, zeta-Cipermetrina, Cifenotrina [isómeros (1R)-trans], Deltametrina, Empentrina [isómeros (EZ)-(1R)], Esfenvalerato, Etofenprox, Fenpropatrina, Fenvalerato, Flucitrinato, Flumetrina, tau-Fluvalinato, Halfenprox, Imiprotrina, Kadetrina, Permetrina, Fenotrina [isómero (1R)-trans), Praletrina, Piretrina (piretrum), Resmetrina, Silafluofén, Teflutrina, Tetrametrina, Tetrametrina [isómeros (1R)], Tralometrina, Transflutrina; DDT; Metoxicloro,

Acetamiprid, Clotianidina, Dinotefuran, Imidacloprid, Nitenpiram, Tiacloprid, Tiametoxam; Nicotina, Spinetoram, Spinosad, Abamectina, Emamectin benzoato, Lepimectina, Milbemectina, Hidropreno, Kinopreno, Metopreno; Fenoxicarb; Piriproxifén, Cloropicrín; Fluoruro de sulfurilo; Bórax; Tártaro emético, Pimetrozina; Flonicamida, Clofentezina, Hexitiazox, Diflovidazina, Etoxazol, Bacillus thuringiensis subespecie israelensis, Bacillus sphaericus, Bacillus thuringiensis subespecie aizawai, Bacillus thuringiensis subespecie kurstaki, Bacillus thuringiensis subespecie tenebrionis, Proteínas de cultivos BT: Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1Fa, Cry2Ab, mCry3A, Cry3Ab, Cry3Bb, Cry34/35Ab1, Diafentiurón, Azociclotina, Cihexatina, Óxido de Fenbutatina; Propargita, Tetradifón,.Clorfenapir, DNOC, Sulfluramida, Bensultap, Cartap clorhidrato, Tiociclam, Tiosultap-sodio, Bistriflurón, Clorfluazurón, Diflubenzurón, Flucicloxurón, Flufenoxurón, Hexaflumurón, Lufenurón, Novalurón, Noviflumurón, Teflubenzurón, Triflumurón, Buprofezina, Ciromazina, Cromafenozida, Halofenozida, Metoxifenozida, Tebufenozida, Amitraz, Hidrametilnón; Acequinocilo; Fluacripirim, Fenazaquina, Fenpiroximato, Pirimidifén, Piridabeno, Tebufenpirad, Tolfenpirad, Rotenona (Derris), Indoxacarb; Metaflumizona, Spirodiclofén, Spiromesifén, Spirotetramat, Fosfuro de aluminio, Fosfuro de calcio, Fosfina, Fosfuro de zinc, Cienopirafén, Clorantraniliprol, Flubendiamida, Amidoflumet, Azadiractina, Benclotiaz, Benzoximato, Bifenazato, Bromopropilato, Quinometionato, Criolita, Ciantraniliprol (Cyazypyr), Ciflumetofén, Dicofol, Diflovidazina, Fluensulfona, Flufenerim, Flufiprol, Fluopiram, Fufenozida, Imidaclotiz, Iprodiona, Meperflutrina, Piridalilo, Pirifluquinazona, Tetrametilflutrina, Yodometano; productos a base de Bacillus firmus (incluidos, a modo no taxativo, la cepa CNCM I-1582, tal como, por ejemplo, VOTiVO™, BioNem); 3-bromo-N-{2-bromo-4-cloro-6-[(1-ciclopropiletil)carbamoil]fenil}-1-(3-cloropiridin-2-il)-1H-pirazol-5-carboxamida (conocido a partir del documento WO2005/077934), 4-{[(6-bromopiridin-3-il)metil](2-fluoroetil)amino}furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO2007/115644), 4-{[(6-fluoropiridin-3-il)metil](2,2-difluoroetil)amino}furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO2007/115644), 4-{[(2-cloro-1,3-tiazol-5-il)metil](2-fluoroetil)amino}furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO2007/115644), 4-{[(6-clorpiridin-3-il)metil](2-fluoroetil)amino}furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO2007/115644), Flupiradifurona, 4-{[(6-clor-5-fluoropiridin-3-il)metil](metil)amino}furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO2007/115643), 4-{[(5,6-dicloropiridin-3-il)metil](2-fluoroetil)amino}furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO2007/115646), 4-{[(6-cloro-5-fluoropiridin-3-il)metil]-(ciclopropil)-amino}-furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO2007/115643), 4-{[(6-cloropiridin-3-il)metil]-(ciclopropil)-amino}furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento EP-A-0 539 588), 4-{[(6-clorpiridin-3-il)-metil](metil)amino}furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento EP-A-0 539 588), {[1-(6-cloropiridin-3-il)etil](metil)óxido-λ^4-sulfanilideno}cianamida (conocido a partir del documento WO2007/149134) y sus diastereómeros {[(1R)-1-(6-cloropiridin-3-il)etil](metil)óxido-λ^4-sulfanilideno}cianamida (A) y {[(1S)-1-(6-cloropiridin-3-il)etil](metil)óxido-λ^4-sulfanilideno}cianamida (B) (también conocido a partir del documento WO2007/149134) así como Sulfoxaflor y sus diastereómeros [(R)-metil(óxido){(1R)-1-[6-(trifluorometil)piridin-3-il]etil}-λ^4-sulfanilideno]cianamida (A1) y [(S)-metil(óxido){(1S)-1-[6-(trifluorometil)piridin-3-il]etil}-λ^4-sulfanilideno]cianamida (A2), a los que se hace referencia como grupo de diastereómeros A (conocido a partir de los documentos WO2010/074747, WO2010/074751), [(R)-metil(óxido){(1S)-1-[6-(trifluorometil)piridin-3-il]etil}-λ^4-sulfanilideno]cianamida (B1) y [(S)-metil(óxido){(1R)-1-[6-(trifluorometil)piridin-3-il]etil}-λ^4-sulfanilideno]cianamida (B2), a los que se hace referencia como grupo de diastereómeros B (también conocido a partir de los documentos WO2010/074747, WO2010/074751), y 11-(4-cloro-2,6-dimetilfenil)-12-hidroxi-1,4-dioxa-9-azadispiro[4.2.4.2]tetradec-11-en-10-ona (conocido a partir del documento WO2006/089633), 3-(4'-fluoro-2,4-dimetilbifenil-3-il)-4-hidroxi-8-oxa-1-azaspiro[4.5]dec-3-en-2-ona (conocido a partir del documento WO2008/067911), 1-{2-fluoro-4-metil-5-[(2,2,2-trifluoretil)sulfinil]fenil}-3-(trifluorometil)-1H-1,2,4-triazol-5-amina (conocido a partir del documento WO2006/043635), [(3S,4aR,12R,12aS,12bS)-3-[(ciclopropilcarbonil)oxi]-6,12-dihidroxi-4,12b-dimetil-11-oxo-9-(piridin-3-il)-1,3,4,4a,5,6, 6a,12,12a,12b-decahidro-2H,11H-benzo[f]-pirano[4,3-b]cromen-4-il]metil ciclopropanocarboxilato (conocido a partir del documento WO2008/066153), 2-ciano-3-(difluorometoxi)-N,N-dimetilbencenosulfonamida (conocido a partir del documento WO2006/056433), 2-ciano-3-(difluorometoxi)-N-metilbencenosulfonamida (conocido a partir del documento WO2006/100288), 2-ciano-3-(difluorometoxi)-N-etilbencenosulfonamida (conocido a partir del documento WO2005/035486), 1,1-dióxido de 4-(difluorometoxi)-N-etil-N-metil-1,2-benzotiazol-3-amina (conocido a partir del documento WO2007/057407), N-[1-(2,3-dimetilfenil)-2-(3,5-dimetilfenil)etil]-4,5-dihidro-1,3-tiazol-2-amina (conocido a partir del documento WO2008/104503), {1'-[(2E)-3-(4-clorofenil)prop-2-en-1-il]-5-fluorospiro[indol-3,4'-piperidin]-1(2H)-il}(2-cloropiridin-4-il)metanona (conocido a partir del documento WO2003/106457), 3-(2,5-dimetilfenil)-4-hidroxi-8-metoxi-1,8-diazaspiro[4.5]dec-3-en-2-ona (conocido a partir del documento WO2009/049851), 3-(2,5-dimetilfenil)-8-metoxi-2-oxo-1,8-diaza-espiro[4.5]dec-3-en-4-il etil carbonato (conocido a partir del documento WO2009/049851), 4-(but-2-in-1-iloxi)-6-(3,5-dimetilpiperidin-1-il)-5-fluoropirimidina (conocido a partir del documento WO2004/099160), (2,2,3,3,4,4,5,5-octafluoropentil)(3,3,3-trifluoropropil)malononitrilo (conocido a partir del documento WO2005/063094), (2,2,3,3,4,4,5,5-octafluoropentil)(3,3,4,4,4-pentafluorobutil)malononitrilo (conocido a partir del documento WO2005/063094), 8-[2-(ciclopropilmetoxi)-4-(trifluorometil)fenoxi]-3-[6-(trifluorometil)-piridazin-3-il]-3-azabiciclo[3.2.1]octano (conocido a partir del documento WO2007/040280), Flometoquin, PF1364 (CAS-Reg.Nro. 1204776-60-2) (conocido a partir del documento JP2010/018586), 5-[5-(3,5-diclorofenil)-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1,2-oxazol-3-il]-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)benzonitrilo (conocido a partir del documento WO2007/075459), 5-[5-(2-cloropiridin-4-il)-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1,2-oxazol-3-il]-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)benzonitrilo (conocido a partir del documento WO2007/075459), 4-[5-(3,5-diclorofenil)-5-(trifluorometil)-4,5-dihidro-1,2-oxazol-3-il]-2-metil-N-{2-oxo-2-[(2,2,2-trifluoroetil)amino]-etil}benzamida (conocido a partir del documento WO2005/085216), 4-{[(6-cloropiridin-3-il)metil]-(ciclopropil)amino}-1,3-oxazol-2(5H)-ona, 4-{[(6-cloropiridin-3-il)metil](2,2-difluoroetil)-amino}-1,3-oxazol-2(5H)-ona, 4-{[(6-cloropiridin-3-il)metil](etil)amino}-1,3-oxazol-2(5H)-ona, 4-{[(6-cloropiridin-3-il)metil](metil)amino}-1,3-oxazol-2(5H)-ona (todos conocidos a partir del documento WO2010/005692), NNI-0711 (conocido a partir del documento WO2002/096882), 1-acetil-N-[4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-metoxipropan-2-il)-3-

isobutilfenil]-N-isobutiril-3,5-dimetil-1H-pirazol-4-carboxamida (conocido a partir del documento WO2002/096882), metil 2-[2-({[3-bromo-1-(3-cloropiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]carbonil}amino)-5-cloro-3-metilbenzoil]-2-metilhidrazinacarboxilato (conocido a partir del documento WO2005/085216), metil 2-[2-({[3-bromo-1-(3-cloropiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]carbonil}amino)-5-ciano-3-metilbenzoil]-2-etilhidrazinacarboxilato (conocido a partir del documento WO2005/085216), metil2-[2-({[3-bromo-1-(3-cloropiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]carbonil}-amino)-5-ciano-3-metilbenzoil]-2-metilhidrazinacarboxilato (conocido a partir del documento WO2005/085216), metil 2-[3,5-dibromo-2-({[3-bromo-1-(3-cloropiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]carbonil}amino)-benzoil]-1,2-dietilhidrazinacarboxilato (conocido a partir del documento WO2005/085216), metil 2-[3,5-dibromo-2-({[3-bromo-1-(3-cloropiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]carbonil}amino)benzoil]-2-etilhidrazina-carboxilato (conocido a partir del documento WO2005/085216), (5RS,7RS;5RS,7SR)-1-(6-cloro-3-piridilmetil)-1,2,3,5,6,7-hexahidro-7-metil-8-nitro-5-propoxiimidazo[1,2-a]piridina (conocido a partir del documento WO2007/101369), N-[2-(5-amino-1,3,4-tiadiazol-2-il)-4-cloro-6-metilfenil]-3-bromo-1-(3-cloro-piridin-2-il)-1H-pirazol-5-carboxamida (conocido a partir de CN102057925) y metil 2-[3,5-dibromo-2-({[3-bromo-1-(3-cloropiridin-2-il)-1H-pirazol-5-il]carbonil}amino)benzoil]-2-etil-1-metilhidrazinacarboxilato (conocido a partir del documento WO2011/049233); aldimorf, azaconazol, bitertanol, bromuconazol, ciproconazol, diclobutrazol, difenoconazol, diniconazol, diniconazol-M, dodemorf, acetato de dodemorf, epoxiconazol, etaconazol, fenarimol, fenbuconazol, fenhexamida, fenpropidina, fenpropimorf, fluquinconazol, flurprimidol, flusilazol, flutriafol, furconazol, furconazol-cis, hexaconazol, imazalilo, imazalil sulfato, imibenconazol, ipconazol, metconazol, miclobutanilo, naftifina, nuarimol, oxpoconazol, paclobutrazol, pefurazoato, penconazol, piperalin, procloraz, propiconazol, protioconazol, piributicarb, pirifenox, quinconazol, simeconazol, spiroxamina, tebuconazol, terbinafina, tetraconazol, triadimefón, triadimenol, tridemorf, triflumizol, triforina, triticonazol, uniconazol, uniconazol-p, viniconazol, voriconazol, 1-(4-clorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)cicloheptanol, metil 1-(2,2-dimetil-2,3-dihidro-1H-inden-1-il)-1H-imidazol-5-carboxilato, N'-{5-(difluorometil)-2-metil-4-[3-(trimetilsilil)propoxi]fenil}-N-etil-N-metilimidoformamida, N-etil-N-metil-N'-{2-metil-5-(trifluorometil)-4-[3-(trimetilsilil)propoxi]fenil}imidoformamida, O-[1-(4-metoxifenoxi)-3,3-dimetilbutan-2-il] 1H-imidazol-1-carbotioato, bixafén, boscalid, carboxina, diflumetorim, fenfuram, fluopiram, flutolanilo, fluxapiroxad, furametpir, furmeciclox, isopirazam (mezcla de racemato sin-epimérico 1RS,4SR,9RS y racemato anti-epimérico 1RS,4SR,9SR), isopirazam (racemato anti-epimérico 1RS,4SR,9SR), isopirazam (enantiómero anti-epimérico 1R,4S,9S), isopirazam (enantiómero anti-epimérico 1S,4R,9R), isopirazam (racemato sin-epimérico 1RS,4SR,9RS), isopirazam (enantiómero sin-epimérico 1R,4S,9R), isopirazam (enantiómero sin-epimérico 1S,4R,9S), mepronilo, oxicarboxina, penflufén, pentiopirad, sedaxano, tifluzamida, 1-metil-N-[2-(1,1,2,2-tetrafluoroetoxi)fenil]-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxamida, 3-(difluorometil)-1-metil-N-[2-(1,1,2,2-tetrafluoroetoxi)fenil]-1H-pirazol-4-carboxamida, 3-(difluorometil)-N-[4-fluoro-2-(1,1,2,3,3,3-hexafluoropropoxi)fenil]-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, N-[1-(2,4-diclorofenil)-1-metoxipropan-2-il]-3-(difluorometil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, 5,8-difluoro-N-[2-(2-fluoro-4-{[4-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi}fenil)etil]quinazolin-4-amina, N-[9-(diclorometileno)-1,2,3,4-tetrahidro-1,4-metanonaftalen-5-il]-3-(difluorometil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, N-[(1S,4R)-9-(diclorometileno)-1,2,3,4-tetrahidro-1,4-metanonaftalen-5-il]-3-(difluorometil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, N-[(1R,4S)-9-(diclorometileno)-1,2,3,4-tetrahidro-1,4-metanonaftalen-5-il]-3-(difluorometil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, ametoctradín, amisulbrom, azoxistrobín, ciazofamida, coumetoxistrobín, coumoxistrobín, dimoxistrobín, enestroburín, famoxadona, fenamidona, fenoxistrobín, fluoxastrobín, kresoxim-metilo, metominostrobín, orisastrobín, picoxistrobín, piraclostrobín, pirametostrobín, piraoxistrobín, piribencarb, triclopiricarb, trifloxistrobín, (2E)-2-(2-{[6-(3-cloro-2-metilfenoxi)-5-fluoropirimidin-4-il]oxi}fenil)-2-(metoxiimino)-N-metiletanamida, (2E)-2-(metoxiimino)-N-metil-2-(2-{[({(1E)-1-[3-(trifluorometil)fenil]etilideno}amino)oxi]metil}fenil)etanamida, (2E)-2-(metoxiimino)-N-metil-2-{2-[(E)-({1-[3-(trifluorometil)fenil]etoxi}imino)metil]fenil}etanamida, (2E)-2-{2-[({[(1E)-1-(3-{[(E)-1-fluoro-2-feniletenil]oxi}fenil)etilideno]amino}oxi)metil]fenil}-2-(metoxiimino)-N-metiletanamida, (2E)-2-{2-[({[(2E,3E)-4-(2,6-diclorofenil)but-3-en-2-ilideno]amino}oxi)metil]fenil}-2-(metoxiimino)-N-metiletanamida, 2-cloro-N-(1,1,3-trimetil-2,3-dihidro-1H-inden-4-il)piridina-3-carboxamida, 5-metoxi-2-metil-4-(2-{[({(1E)-1-[3-(trifluorometil)fenil]etilideno}amino)oxi]metil}fenil)-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-ona, metil (2E)-2-{2-[({ciclopropil[(4-metoxifenil)imino]metil}sulfanil)metil]fenil}-3-metoxiprop-2-enoato, N-(3-etil-3,5,5-trimetilciclohexil)-3-(formilamino)-2-hidroxibenzamida, 2-{2-[(2,5-dimetilfenoxi)metil]fenil}-2-metoxi-N-metilacetamida, (2R)-2-{2-[(2,5-dimetilfenoxi)metil]fenil}-2-metoxi-N-metilacetamida, benomilo, carbendazim, clorfenazol, dietofencarb, etaboxam, fluopicolida, fuberidazol, pencicurón, tiabendazol, tiofanato-metilo, tiofanato, zoxamida, 5-cloro-7-(4-metilpiperidin-1-il)-6-(2,4,6-trifluorofenil)[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidina, 3-cloro-5-(6-cloropiridin-3-il)-6-metil-4-(2,4,6-trifluorofenil)piridazina, mezcla bordeaux, captafol, captán, clorotalonilo, hidróxido de cobre, naftenato de cobre, óxido de cobre, oxicloruro de cobre, sulfato de cobre(2+), diclofluanid, ditianón, dodina, base libre de dodina, ferbam, fluorofolpet, folpet, guazatina, acetato de guazatina, iminoctadina, iminoctadina albesilato, triacetato de iminoctadina, mancobre, mancozeb, maneb, metiram, metiram zinc, oxina-cobre, propamidina, propineb, azufre, preparaciones de azufre que incluyen polisulfuro de calcio, tiram, tolilfluanid, zineb, ziram, acibenzolar-S-metilo, isotianilo, probenazol, tiadinilo, andoprim, blasticidina-S, ciprodinilo, kasugamicina, kasugamicina clorhidrato hidrato, mepanipirim, pirimetanilo, 3-(5-fluoro-3,3,4,4-tetrametil-3,4-dihidroisoquinolin-1-il)quinolina, acetato de fentina, fentina cloruro, fentina hidróxido, siltiofam, bentiavalicarb, dimetomorf, flumorf, iprovalicarb, mandipropamida, polioxinas, polioxorim, validamicina A, valifenalato, bifenilo, cloroneb, diclorán, edifenfós, etridiazol, yodocarb, iprobenfós, isoprotiolano, propamocarb, propamocarb clorhidrato, protiocarb, pirazofós, quintoceno, tecnaceno tolclofós-metilo, carpropamida, diclocimet, fenoxanilo, ftalida, piroquilón, triciclazol, 2,2,2-trifluoroetil {3-metil-1-[(4-metilbenzoil)amino]butan-2-il}carbamato, benalaxilo, benalaxil-M (kiralaxil), bupirimato, clozilacón, dimetirimol, etirimol, furalaxilo, himexazol, metalaxilo, metalaxil-M (mefenoxam), ofurace, oxadixilo, ácido oxolínico, clozolinato, fenpiclonilo, fludioxonilo, iprodiona, procimidona, quinoxifén, vinclozolilo, binapacrilo, dinocap, ferimzona, fluazinam, meptildinocap, bentiazol, betoxazina, capsimicina, carvona, Quinometionato, piriofenona (clazafenona), cufraneb, ciflufenamida, cimoxanilo,

ciprosulfamida, dazomet, debacarb, diclorofén, diclomezina, difenzoquat, difenzoquat metilsulfato, difenilamina, ecomato, fenpirazamina, flumetover, fluoroimida, flusulfamida, flutianilo, fosetil-aluminio, fosetil-calcio, fosetil-sodio, hexaclorobenceno, irumamicina, metasulfocarb, metil isotiocianato, metrafenona, mildiomicina, natamicina, níquel dimetilditiocarbamato, nitrotal-isopropilo, octilinona, oxamocarb, oxifentiína, pentaclorofenol y sales, fenotrina, ácido fosforoso y sus sales, propamocarb-fosetilato, propanosina-sodio, proquinazid, pirimorf, (2E)-3-(4-terc-butilfenil)-3-(2-cloropiridin-4-il)-1-(morfolin-4-il)prop-2-en-1-ona, (2Z)-3-(4-terc-butilfenil)-3-(2-cloropiridin-4-il)-1-(morfolin-4-il)prop-2-en-1-ona, pirrolnitrina, tebufloquina, tecloftalam, tolnifanida, triazóxido, triclamida, zarilamida, (3S,6S,7R,8R)-8-bencil-3-[({3-[(isobutiriloxi)metoxi]-4-metoxipiridin-2-il}carbonil)amino]-6-metil-4,9-dioxo-1,5-dioxonan-7-il 2-metilpropanoato, 1-(4-{4-[(5R)-5-(2,6-difluorofenil)-4,5-dihidro-1,2-oxazol-3-il]-1,3-tiazol-2-il}piperidin-1-il)-2-[5-metil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il]etanona, 1-(4-{4-[(5S)-5-(2,6-difluorofenil)-4,5-dihidro-1,2-oxazol-3-il]-1,3-tiazol-2-il}piperidin-1-il)-2-[5-metil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il]etanona, 1-(4-{4-[5-(2,6-difluorofenil)-4,5-dihidro-1,2-oxazol-3-il]-1,3-tiazol-2-il}piperidin-1-il)-2-[5-metil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il]etanona, 1-(4-metoxifenoxi)-3,3-dimetilbutan-2-il 1H-imidazol-1-carboxilato, 2,3,5,6-tetracloro-4-(metilsulfonil)piridina, 2,3-dibutil-6-clorotieno[2,3-d]pirimidin-4(3H)-ona, 2,6-dimetil-1H,5H-[1,4]ditiino[2,3-c:5,6-c']dipirrol-1,3,5,7(2H,6H)-tetrona, 2-[5-metil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il]-1-(4-{4-[(5R)-5-fenil-4,5-dihidro-1,2-oxazol-3-il]-1,3-tiazol-2-il}piperidin-1-il)etanona, 2-[5-metil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il]-1-(4-{4-[(5S)-5-fenil-4,5-dihidro-1,2-oxazol-3-il]-1,3-tiazol-2-il}piperidin-1-il)etanona, 2-[5-metil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il]-1-{4-[4-(5-fenil-4,5-dihidro-1,2-oxazol-3-il)-1,3-tiazol-2-il]piperidin-1-il}etanona, 2-butoxi-6-yodo-3-propil-4H-cromen-4-ona, 2-cloro-5-[2-cloro-1-(2,6-difluoro-4-metoxifenil)-4-metil-1H-imidazol-5-il]piridina, 2-fenilfenol y sales, 3-(4,4,5-trifluoro-3,3-dimetil-3,4-dihidroisoquinolin-1-il)quinolina, 3,4,5-tricloropiridina-2,6-dicarbonitrilo, 3-[5-(4-clorofenil)-2,3-dimetil-1,2-oxazolidin-3-il]piridina, 3-cloro-5-(4-clorofenil)-4-(2,6-difluorofenil)-6-metilpiridazina, 4-(4-clorofenil)-5-(2,6-difluorofenil)-3,6-dimetilpiridazina, 5-amino-1,3,4-tiadiazol-2-tiol, 5-cloro-N'-fenil-N'-(prop-2-in-1-il)tiofeno-2-sulfonohidrazida, 5-fluoro-2-[(4-fluorobencil)oxi]pirimidin-4-amina, 5-fluoro-2-[(4-metilbencil)oxi]pirimidin-4-amina, 5-metil-6-octil[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidin-7-amina, etil (2Z)-3-amino-2-ciano-3-fenilprop-2-enoato, N'-(4-{[3-(4-clorobencil)-1,2,4-tiadiazol-5-il]oxi}-2,5-dimetilfenil)-N-etil-N-metilimidoformamida, N-(4-clorobencil)-3-[3-metoxi-4-(prop-2-in-1-iloxi)fenil]propanamida, N-[(4-clorofenil)(ciano)metil]-3-[3-metoxi-4-(prop-2-in-1-iloxi)fenil]propanamida, N-[(5-bromo-3-cloropiridin-2-il)metil]-2,4-dicloropiridina-3-carboxamida, N-[1-(5-bromo-3-cloropiridin-2-il)etil]-2,4-dicloropiridina-3-carboxamida, N-[1-(5-bromo-3-cloropiridin-2-il)etil]-2-fluoro-4-yodopiridina-3-carboxamida, N-{(E)-[(ciclopropilmetoxi)imino][6-(difluorometoxi)-2,3-difluorofenil]metil}-2-fenilacetamida, N-{(Z)-[(ciclopropilmetoxi)imino][6-(difluorometoxi)-2,3-difluorofenil]metil}-2-fenilacetamida, N'-{4-[(3-terc-butil-4-ciano-1,2-tiazol-5-il)oxi]-2-cloro-5-metilfenil}-N-etil-N-metilimidoformamida, N-metil-2-(1-{[5-metil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il]acetil}piperidin-4-il)-N-(1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-il)-1,3-tiazol-4-carboxamida, N-metil-2-(1-{[5-metil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il]acetil}piperidin-4-il)-N-[(1R)-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-il]-1,3-tiazol-4-carboxamida, N-metil-2-(1-{[5-metil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il]acetil}piperidin-4-il)-N-[(1S)-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-il]-1,3-tiazol-4-carboxamida, pentil {6-[({[(1-metil-1H-tetrazol-5-il)(fenil)metilideno]amino}oxi)metil]piridin-2-il}carbamato, ácido fenazina-1-carboxílico, quinolin-8-ol, quinolin-8-ol sulfato (2:1), terc-butil {6-[({[(1-metil-1H-tetrazol-5-il)(fenil)metileno]amino}oxi)metil]piridin-2-il}carbamato, 1-metil-3-(trifluorometil)-N-[2'-(trifluorometil)bifenil-2-il]-1H-pirazol-4-carboxamida, N-(4'-clorobifenil-2-il)-3-(difluorometil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, N-(2',4'-diclorobifenil-2-il)-3-(difluorometil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, 3-(difluorometil)-1-metil-N-[4'-(trifluorometil)bifenil-2-il]-1H-pirazol-4-carboxamida, N-(2',5'-difluorobifenil-2-il)-1-metil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxamida, 3-(difluorometil)-1-metil-N-[4'-(prop-1-in-1-il)bifenil-2-il]-1H-pirazol-4-carboxamida, 5-fluoro-1,3-dimetil-N-[4'-(prop-1-in-1-il)bifenil-2-il]-1H-pirazol-4-carboxamida, 2-cloro-N-[4'-(prop-1-in-1-il)bifenil-2-il]piridina-3-carboxamida, 3-(difluorometil)-N-[4'-(3,3-dimetilbut-1-in-1-il)bifenil-2-il]-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, N-[4'-(3,3-dimetilbut-1-in-1-il)bifenil-2-il]-5-fluoro-1,3-dimetil-1H-pirazol-4-carboxamida, 3-(difluorometil)-N-(4'-etinilbifenil-2-il)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, N-(4'-etinilbifenil-2-il)-5-fluoro-1,3-dimetil-1H-pirazol-4-carboxamida, 2-cloro-N-(4'-etinilbifenil-2-il)piridina-3-carboxamida, 2-cloro-N-[4'-(3,3-dimetilbut-1-in-1-il)bifenil-2-il]piridina-3-carboxamida, 4-(difluorometil)-2-metil-N-[4'-(trifluorometil)bifenil-2-il]-1,3-tiazol-5-carboxamida, 5-fluoro-N-[4'-(3-hidroxi-3-metilbut-1-in-1-il)bifenil-2-il]-1,3-dimetil-1H-pirazol-4-carboxamida, 2-cloro-N-[4'-(3-hidroxi-3-metilbut-1-in-1-il)bifenil-2-il]piridina-3-carboxamida, 3-(difluorometil)-N-[4'-(3-metoxi-3-metilbut-1-in-1-il)bifenil-2-il]-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, 5-fluoro-N-[4'-(3-metoxi-3-metilbut-1-in-1-il)bifenil-2-il]-1,3-dimetil-1H-pirazol-4-carboxamida, 2-cloro-N-[4'-(3-metoxi-3-metilbut-1-in-1-il)bifenil-2-il]piridina-3-carboxamida, (5-bromo-2-metoxi-4-metilpiridin-3-il)(2,3,4-trimetoxi-6-metilfenil)metanona, N-[2-(4-{[3-(4-clorofenil)prop-2-in-1-il]oxi}-3-metoxifenil)etil]-N2-(metilsulfonil)valinamida, ácido 4-oxo-4-[(2-feniletil)amino]butanoico, but-3-in-1-il {6-[({[(Z)-(1-metil-1H-tetrazol-5-il)(fenil)metileno]amino}oxi)metil]piridin-2-il}carbamato.

En otros aspectos de la invención, el herbicida o combinación de herbicidas que se aplica a la plantas con SYHT0H2 actúan como protectores. Por ejemplo, se aplica a la planta un primer herbicida o una mezcla de herbicidas en una cantidad efectiva como antídoto. Por ejemplo, el método puede comprender plantar un área de cultivo con semillas o plantas de cultivo que comprenden un primer polinucleótido que codifica un polipéptido que puede ofrecer tolerancia a un herbicida inhibidor de HPPD, operativamente conectado a un promotor activo en una planta; y, un segundo polinucleótido que codifica un polipéptido que ofrece tolerancia herbicida, operativamente conectado a un promotor activo de una planta. Se aplica una combinación de herbicidas que comprende al menos una cantidad efectiva de un primer y un segundo herbicida al cultivo, parte del cultivo, maleza, o área de cultivo de este. La cantidad efectiva de la combinación de herbicidas controla las malezas; y la cantidad efectiva del primer herbicida no es tolerada por el cultivo cuando se aplica en forma independiente, en comparación con un cultivo de control que no se ha expuesto al primer herbicida; y la cantidad efectiva del segundo herbicida es suficiente para producir un efecto protector, donde

el efecto protector ofrece un aumento en la tolerancia del cultivo luego de la aplicación del primer y segundo herbicida, en comparación con la tolerancia del cultivo cuando solo se aplica el primer herbicida.

En aspectos específicos de la invención, la combinación de los herbicidas protectores comprende un primer inhibidor de HPPD y un segundo inhibidor de HPPD. En otros aspectos de la invención, el efecto protector se logra mediante la aplicación de una cantidad efectiva de una combinación de un inhibidor de HPPD y al menos un herbicida adicional. Tales mezclas proporcionan una mayor tolerancia de los cultivos (es decir, una disminución en los daños por herbicidas). Este método permite la aplicación de tasas mayores de los químicos antes y después del tratamiento.

En otro aspecto de la divulgación, se proporciona un sitio para la inserción dirigida de ácidos nucleicos heterólogos que no sean HPPD de *Avena sativa*, que es el mismo sitio que SYHT0H2. Ver Ejemplos 5 y 6.

En un aspecto adicional de la invención, se puede utilizar la semilla de una planta de soja que comprende el evento SYHT0H2, así como diferentes partes de la planta de soja, para alimento humano, de animales de cría y como materia prima para la industria. La semilla de soja se puede triturar o se puede extraer un componente de la semilla de soja a efectos de incluirse en un producto alimenticio para humanos o animales.

La soja es la principal fuente mundial de aceite vegetal y alimentos proteicos. El aceite que se extrae de la soja se utiliza como aceite de cocina, margarina y aderezos para ensalada. El aceite de soja se compone de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados. Típicamente está compuesto por 11% de ácido graso palmítico, 4% de esteárico, 25% de oleico, 50% de linoleico y 9% de linolénico ("Economic Implications of Modified Soybean Traits Summary Report", Soybean Promotion Board de Iowa e Informe Especial 92S de la American Soybean Association, mayo de 1990). En forma constante se busca realizar cambios en la composición de los ácidos grasos para mejorar la estabilidad oxidativa y propiedades nutritivas. Los usos industriales del aceite de soja que se someten a un proceso adicional incluyen ingredientes para pinturas, plásticos, fibras, detergentes, cosméticos, lubricantes y combustible biodiesel. El aceite de soja se puede dividir, interesterificar, sulfurizar, epoxidizar, polimerizar, etoxilar o escindir. El diseño y producción de derivados de aceite de soja con mejor funcionalidad y oleoquímica es un rubro que crece rápidamente. En general, se divide y separa la mezcla típica de triglicéridos en ácidos grasos puros que luego se combinan con alcoholes o ácidos derivados de petróleo, nitrógeno, sulfonatos, cloro o con alcoholes grasos derivados de las grasas y aceites.

La soja también se utiliza como fuente alimenticia tanto para animales como humanos. La soja se utiliza en forma generalizada como fuente de proteínas para alimentar animales como aves de corral, porcinos y ganado boviNro. Durante el procesamiento de la soja entera, se elimina la vaina fibrosa y se extrae el aceite. El resto de la soja triturada es una combinación de carbohidratos y aproximadamente 50% de proteínas.

La soja triturada para consumo humano se utiliza para fabricar harina de soja que se procesa para obtener los concentrados de proteínas que se utilizan para mezclarse con carnes o alimentos especiales para mascotas. La producción de ingredientes proteicos comestibles de la soja ofrece un sustituto más saludable y económico para incluir proteínas animales en la carne así como los productos de consumo diario.

El proceso de producción de estos productos puede realizarse, por ejemplo, de la forma que se indica a continuación: (i) calentar los granos a una temperatura de hasta 82 ºC, hasta que contengan solo 9% de humedad; (ii) colocarlos en barriles durante 24 a 72 horas; (iii) triturar los granos para quitar las vainas de forma que los residuales tengan una medida entre ¼ y ⅛ de los granos originales; (iv) quitar las vainas con succión de aire; (v) calentar los residuales a 71 ºC durante 20 a 30 minutos; (vi) prensar los residuales en pequeños copos de un espesor de 1,2 a 1,6 milímetros; (vii) someter a tratamiento para crear ‘copos inflados’ con ayuda de una prensa mecánica y vapor; (viii) lavar con hexano para disolver las grasas; (ix) calentar a 100 ºC durante 20 minutos para evaporar las grasas (las grasas recuperadas producen aceite de soja); (x) calentar adicionalmente para eliminar el hexano; (xi) prensar los copos inflados en partes de 2 a 4 milímetros para producir soja triturada o prensar para obtener torta de alimentación de soja.

Los aspectos de la invención se describen adicionalmente en los siguientes Ejemplos. Se comprenderá que estos Ejemplos se incluyen solo a efectos ilustrativos. A partir del análisis precedente y estos Ejemplos, los expertos en la técnica podrán determinar las características esenciales y sin apartarse del espíritu de esta, podrán realizar varios cambios y modificaciones a los aspectos de la invención para adaptarla a los diferentes usos y condiciones. Así pues, las diferentes modificaciones de los aspectos de la invención, además de los que se muestran y describen en la presente, resultarán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la descripción que antecede.

Combinaciones y aplicaciones

Las siguientes tablas incluyen ejemplos de posibles pilas de reproducción que se pueden cruzar con SYHT0H2 que incluyen (i) eventos transgénicos conocidos, (ver Tabla 2) (ii) combinaciones posibles de rasgos que se podrían diseñar en forma genética para producir SYHT0H2 o (iii) diseñar en forma genética para producir un nuevo evento

transgénico y posteriormente cruzarse con SYHT0H2 (ver Tabla 3), y posibles composiciones herbicidas para usar en dichas pilas. (Ver Tablas 2 y 3.)
Para cualquiera de estas combinaciones siempre es posible (i) usar solo un inhibidor de HPPD (por ejemplo, de 25 a 500 g/ha de sulcotriona, de 25 a 250 g/ha de mesotriona, de 25 a 250 g/ha de biciclopirona, de 25 a 250 g/ha de isoxaflutol, de 25 a 250 g/ha de tembotriona, de 5 a 250 g/ha de topramezona), de 5 a 250 g/ha de pirasulfatol, (ii) usar una combinación en forma de mezcla en tanque, y/o (iii) usar una aplicación en forma de una aplicación posterior. En tal sentido, "+" tal como se indica en las tablas a continuación significa cualquier aplicación de los herbicidas indicados al mismo campo de plantas. Incluye ambas mezclas y las aplicaciones posteriores donde el tiempo y orden de aplicación pueden variar.

Tabla 2

Pila de reproducción que, además de SYHT0H2, contiene:	Composición herbicida que comprende:
Resistencia a glifosato por ejemplo, EPSPS (por ejemplo, GTS 40-3-2, MON89788, FG72, DP-356043-5)	a. 25 a 500 g/ha sulcotriona + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato b. 25 a 250 g/ha mesotriona + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato c. 25 a 250 g/ha biciclopirona + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato d. 25 a 250 g/ha isoxaflutol + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato e. 25 a 250 g/ha tembotriona + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato f. 5 a 250 g/ha topramezona + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato g. 5 a 250 g/ha pirasulfatol + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato
Resistencia a glufosinato, por ejemplo, pat / bar (por ejemplo, A2704-12, DAS-68416-4, A5547-127, GU262)	a. 25 a 500 g/ha sulcotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato b. 25 a 250 g/ha mesotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato c. 25 a 250 g/ha biciclopirona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato d. 25 a 250 g/ha isoxaflutol + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato e. 25 a 250 g/ha tembotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato f. 5 a 250 g/ha topramezona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato g. 5 a 250 g/ha pirasulfatol + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato
Tolerancia a 2,4-D (por ejemplo, DAS-68416-4, DAS-40278-9)	a. 25 a 500 g/ha sulcotriona + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D b. 25 a 250 g/ha mesotriona + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D c. 25 a 250 g/ha biciclopirona + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D d. 25 a 250 g/ha isoxaflutol + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D e. 25 a 250 g/ha tembotriona + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D f. 5 a 250 g/ha topramezona + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D g. 5 a 250 g/ha pirasulfatol + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D
Tolerancia a dicamba (por ejemplo, MON87708)	a. 25 a 500 g/ha sulcotriona + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba b. 25 a 250 g/ha mesotriona + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba c. 25 a 250 g/ha biciclopirona + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba d. 25 a 250 g/ha isoxaflutol + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba e. 25 a 250 g/ha tembotriona + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba f. 5 a 250 g/ha topramezona + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba g. 5 a 250 g/ha pirasulfatol + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba
Tolerancia a ALS (por ejemplo, DP-356043-5, 127, BPS-CV127-9)	a. 25 a 500 g/ha sulcotriona + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo b. 25 a 250 g/ha mesotriona + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo c. 25 a 250 g/ha biciclopirona + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo d. 25 a 250 g/ha isoxaflutol + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón,

	primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo e. 25 a 250 g/ha tembotriona + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo f. 5 a 250 g/ha topramezona + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo g. 5 a 250 g/ha pirasulfatol + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo
Resistencia a glifosato, por ejemplo, EPSPS (por ejemplo, GTS 40-3-2, MON89788, FG72, DP-356043-5) y resistencia a glufosinato, por ejemplo, pat / bar (por ejemplo, A2704-12, DAS-68416-4, A5547-127, GU262)	a. 25 a 500 g/ha sulcotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato b. 25 a 250 g/ha mesotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato c. 25 a 250 g/ha biciclopirona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato d. 25 a 250 g/ha isoxaflutol + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato e. 25 a 250 g/ha tembotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato f. 5 a 250 g/ha topramezona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato g. 5 a 250 g/ha pirasulfatol + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato
Resistencia a glifosato, por ejemplo, EPSPS (por ejemplo, GTS 40-3-2, MON89788, FG72, DP-356043-5) y resistencia a glufosinato, por ejemplo, pat / bar (por ejemplo, A2704-12, DAS-68416-4, A5547-127, GU262) y tolerancia a dicamba (por ejemplo, MON87708)	a. 25 a 500 g/ha sulcotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba b. 25 a 250 g/ha mesotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba c. 25 a 250 g/ha biciclopirona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba d. 25 a 250 g/ha isoxaflutol + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba e. 25 a 250 g/ha tembotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba f. 5 a 250 g/ha topramezona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba g. 5 a 250 g/ha pirasulfatol + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba
Resistencia a glifosato, por ejemplo, EPSPS (por ejemplo, GTS 40-3-2, MON89788, FG72, DP-356043-5) y resistencia a glufosinato, por ejemplo, pat / bar (por ejemplo, A2704-12, DAS-68416-4, A5547-127, GU262) y tolerancia a 2,4-D (por ejemplo, DAS-68416-4, DAS-40278-9))	a. 25 a 500 g/ha sulcotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D b. 25 a 250 g/ha mesotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D c. 25 a 250 g/ha biciclopirona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D d. 25 a 250 g/ha isoxaflutol + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D e. 25 a 250 g/ha tembotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D f. 5 a 250 g/ha topramezona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D

	g. 5 a 250 g/ha pirasulfatol + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D

Tabla 3

Apilamiento molecular que comprende además:	Composición herbicida que comprende:
Resistencia a glifosato, por ejemplo, EPSPS, GAT, GOX	a. 25 a 500 g/ha sulcotriona + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato b. 25 a 250 g/ha mesotriona + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato c. 25 a 250 g/ha biciclopirona + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato d. 25 a 250 g/ha isoxaflutol + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato e. 25 a 250 g/ha tembotriona + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato f. 5 a 250 g/ha topramezona + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato g. 5 a 250 g/ha pirasulfatol + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato
Resistencia a glufosinato, por ejemplo, PAT, BAR	a. 25 a 500 g/ha sulcotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato b. 25 a 250 g/ha mesotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato c. 25 a 250 g/ha biciclopirona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato d. 25 a 250 g/ha isoxaflutol + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato e. 25 a 250 g/ha tembotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato f. 5 a 250 g/ha topramezona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato g. 5 a 250 g/ha pirasulfatol + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato
Tolerancia a 2,4-D por ejemplo, tfdA, AAD-1, AAD-12, AAD-13	a. 25 a 500 g/ha sulcotriona + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D b. 25 a 250 g/ha mesotriona + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D c. 25 a 250 g/ha biciclopirona + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D d. 25 a 250 g/ha isoxaflutol + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D e. 25 a 250 g/ha tembotriona + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D f. 5 a 250 g/ha topramezona + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D g. 5 a 250 g/ha pirasulfatol + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D
Tolerancia a dicamba por ejemplo, monooxigenasa de dicamba (DMO)	a. 25 a 500 g/ha sulcotriona + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba b. 25 a 250 g/ha mesotriona + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba c. 25 a 250 g/ha biciclopirona + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba d. 25 a 250 g/ha isoxaflutol + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba e. 25 a 250 g/ha tembotriona + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba f. 5 a 250 g/ha topramezona + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba g. 5 a 250 g/ha pirasulfatol + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba
Tolerancia a ALS por ejemplo, S4 y Hra	a. 25 a 500 g/ha sulcotriona + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo b. 25 a 250 g/ha mesotriona + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo c. 25 a 250 g/ha biciclopirona + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo d. 25 a 250 g/ha isoxaflutol + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo e. 25 a 250 g/ha tembotriona + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón,

	primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo f. 5 a 250 g/ha topramezona + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo g. 5 a 250 g/ha pirasulfatol + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo
Resistencia a glifosato, por ejemplo, EPSPS, GAT, GOX y resistencia a glufosinato, por ejemplo, PAT, BAR	a. 25 a 500 g/ha sulcotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato b. 25 a 250 g/ha mesotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato c. 25 a 250 g/ha biciclopirona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato d. 25 a 250 g/ha isoxaflutol + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato e. 25 a 250 g/ha tembotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato f. 5 a 250 g/ha topramezona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato g. 5 a 250 g/ha pirasulfatol + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato
Resistencia a glifosato, por ejemplo, EPSPS, GAT, GOX y tolerancia a 2,4-D por ejemplo, tfdA, AAD-1, AAD-12, AAD-13	a. 25 a 500 g/ha sulcotriona + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D b. 25 a 250 g/ha mesotriona + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D c. 25 a 250 g/ha biciclopirona + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D d. 25 a 250 g/ha isoxaflutol + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D e. 25 a 250 g/ha tembotriona + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D f. 5 a 250 g/ha topramezona + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D g. 5 a 250 g/ha pirasulfatol + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D
Resistencia a glufosinato, por ejemplo, PAT, BAR y tolerancia a 2,4-D por ejemplo, tfdA, AAD-1, AAD-12, AAD-13	a. 25 a 500 g/ha sulcotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D b. 25 a 250 g/ha mesotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D c. 25 a 250 g/ha biciclopirona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D d. 25 a 250 g/ha isoxaflutol + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D e. 25 a 250 g/ha tembotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D f. 5 a 250 g/ha topramezona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D g. 5 a 250 g/ha pirasulfatol + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D
Resistencia a glifosato, por ejemplo, EPSPS, GAT, GOX y tolerancia a dicamba por ejemplo, DMO	a. 25 a 500 g/ha sulcotriona + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba b. 25 a 250 g/ha mesotriona + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba c. 25 a 250 g/ha biciclopirona + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato +

	(opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba d. 25 a 250 g/ha isoxaflutol + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba e. 25 a 250 g/ha tembotriona + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba f. 5 a 250 g/ha topramezona + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba g. 5 a 250 g/ha pirasulfatol + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba
Resistencia a glufosinato, por ejemplo, PAT, BAR y tolerancia a dicamba por ejemplo, DMO	a. 25 a 500 g/ha sulcotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba b. 25 a 250 g/ha mesotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba c. 25 a 250 g/ha biciclopirona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba d. 25 a 250 g/ha isoxaflutol + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba e. 25 a 250 g/ha tembotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba f. 5 a 250 g/ha topramezona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba g. 5 a 250 g/ha pirasulfatol + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba
Resistencia a glifosato, por ejemplo, EPSPS, GAT, GOX y resistencia a glufosinato, por ejemplo, PAT, BAR y tolerancia a dicamba por ejemplo, DMO	a. 25 a 500 g/ha sulcotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba b. 25 a 250 g/ha mesotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba c. 25 a 250 g/ha biciclopirona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba d. 25 a 250 g/ha isoxaflutol + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba e. 25 a 250 g/ha tembotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba f. 5 a 250 g/ha topramezona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba g. 5 a 250 g/ha pirasulfatol + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba
Resistencia a glifosato, por ejemplo, EPSPS, GAT, GOX y resistencia a glufosinato, por ejemplo, PAT, BAR y tolerancia a 2,4-D por ejemplo, tfdA, AAD-1, AAD-12, AAD-13	a. 25 a 500 g/ha sulcotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D b. 25 a 250 g/ha mesotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D c. 25 a 250 g/ha biciclopirona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D d. 25 a 250 g/ha isoxaflutol + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D e. 25 a 250 g/ha tembotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D f. 5 a 250 g/ha topramezona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D g. 5 a 250 g/ha pirasulfatol + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D
Resistencia a glifosato, por ejemplo, EPSPS, GAT, GOX y resistencia a glufosinato, por ejemplo, PAT, BAR y tolerancia a inhibidores de ALS, por ejemplo, Sr4, Hra	a. 25 a 500 g/ha sulcotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo b. 25 a 250 g/ha mesotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón

	sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo c. 25 a 250 g/ha biciclopirona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo d. 25 a 250 g/ha isoxaflutol + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo e. 25 a 250 g/ha tembotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo f. 5 a 250 g/ha topramezona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo g. 5 a 250 g/ha pirasulfatol + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo
Resistencia a glifosato, por ejemplo, EPSPS, GAT, GOX y resistencia a glufosinato, por ejemplo, PAT, BAR y tolerancia a inhibidores de ALS, por ejemplo, Sr4, Hra y tolerancia a dicamba por ejemplo, DMO	a. 25 a 500 g/ha sulcotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba b. 25 a 250 g/ha mesotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba c. 25 a 250 g/ha biciclopirona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón

	sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba d. 25 a 250 g/ha isoxaflutol + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba e. 25 a 250 g/ha tembotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba f. 5 a 250 g/ha topramezona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba g. 5 a 250 g/ha pirasulfatol + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo + (opcionalmente) 50 a 2000 g/ha dicamba
Resistencia a glifosato, por ejemplo, EPSPS, GAT, GOX y resistencia a glufosinato, por ejemplo, PAT, BAR y tolerancia a inhibidores de ALS, por ejemplo, Sr4, Hra y tolerancia a 2,4-D por ejemplo, tfdA, AAD-1, AAD-12, AAD-13	a. 25 a 500 g/ha sulcotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D b. 25 a 250 g/ha mesotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D c. 25 a 250 g/ha biciclopirona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D

	d. 25 a 250 g/ha isoxaflutol + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D e. 25 a 250 g/ha tembotriona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D f. 5 a 250 g/ha topramezona + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D g. 5 a 250 g/ha pirasulfatol + (opcionalmente) 200 a 1500 g/ha glufosinato + (opcionalmente) 350 a 2000 g/ha glifosato + (opcionalmente) 5-500 g/ha de cualquier herbicida o combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo + (opcionalmente) 100 a 2000 g/ha 2,4-D

Estas tablas se proporcionan solamente a modo de ejemplo. Posibles rasgos que pueden incluirse en una pila de reproducción con SYHT0H2 o diseñarse genéticamente en SYHT0H2 incluyen, a modo no taxativo: rasgos que codifican resistencia al glifosato (por ejemplo, EPSPS, GOX, GAT vegetales o bacterianas resistentes), resistencia al glufosinato (por ejemplo, PAT, BAR), resistencia a herbicidas que inhiben la acetolactato sintasa (ALS) (por ejemplo, imidazolinonas [tales como imazetapir], sulfonilureas, triazolopirimidina sulfonanilida, pirmidiniltiobenzoatos y otros productos químicos), resistencia al bromoxinil (por ejemplo, Bxn), resistencia a inhibidores de la enzima HPPD (por ejemplo, 4-hidroxilfenil-piruvato-dioxigenasa de Pseudomonas, Avena sativa), resistencia a inhibidores de fitoeno desaturasa (PDS), resistencia a herbicidas que inhiben el fotosistema II (por ejemplo, psbA), resistencia a herbicidas que inhiben el fotosistema I, resistencia a herbicidas que inhiben la protoporfirinógeno oxidasa IX (PPO) (por ejemplo, fomesafén, acifluorfén-sodio, oxifluorfén, lactofén, flutiacet-metilo, saflufenacilo, flumioxazina, flumiclorac-pentilo, carfentrazona-etilo, sulfentrazona), resistencia a herbicidas de fenilurea (por ejemplo, CIP76B1), resistencia a 2,4-D (por ejemplo, ariloxialcanoato dioxigenasa o tfdA, AAD-1, AAD-12 o AAD-13), enzimas de homogentisato solanesiltransferasa (por ejemplo, HST) que degradan dicamba (por ejemplo, DMO) y otros que podrían apilarse solos o en múltiples combinaciones para proporcionar la capacidad de controlar o prevenir eficazmente cambios y/o resistencia de malezas a cualquier herbicida de las clases mencionadas anteriormente.

Las composiciones herbicidas individualizadas adicionalmente pueden comprender uno o más herbicidas selectivos para la soja que se seleccionan del grupo que consiste en acetoclor, acifluorfén, acifluorfén-sodio, aclonifén, alacloro, alidocloro, aloxidim, aloxidim-sodio, ametrina, amicarbazona, amidocloro, amidosulfurón, aminociclopiracloro, aminociclopiraclor-potasio, aminociclopiraclor-metilo, aminopiralid, amitrol, amoniosulfamato, anilofós, asulam, atrazina, azafenidina, azimsulfurón, beflubutamida, benazolina, benazolina-etilo, benfluralina, benfuresato, bensulfurón, bensulfurón-metilo, bensulida, bentazona, benzobiciclón, benzofenap, biciclopirona, bifenox, bilanafós, bilanafós-sodio, bispiribac, bispiribac-sodio, bromacilo, bromobutida, bromofenoxim, bromoxinilo, bromoxinil-butirato, -potasio, -heptanoato y -octanoato, busoxinona, butacloro, butafenacilo, butamifós, butenacloro, butralina, butroxidim, butilato, cafenstrol, carbetamida, carfentrazona, carfentrazona-etilo, clorambén, clorbromurón, clorfenac, clorfenac-sodio, clorfenprop, clorflurenol, clorflurenol-metilo, cloridazón, clorimurón, clorimurón-etilo, cloroftalim, clorotolurón, clortal-dimetilo, clorsulfurón, cinidón, cinidón-etilo, cinmetilina, cinosulfurón, cletodim, clodinafop, clodinafop-propargilo, clomazona, clomeprop, clopiralid, cloransulam, cloransulam-metilo, cumilurón, cianamida, cianazina, cicloato, ciclosulfamurón, cicloxidim, cihalofop, cihalofop-butilo, ciprazina, 2,4-D, 2,4-D-butotilo, -butilo, -

dimetilamonio, -diolamina, -etilo, 2-etilhexilo, dazomet, -isobutilo, -isooctilo, -isopropilamonio, -potasio, -triisopropanolamonio y -trolamina, 2,4-DB, 2,4-DB-butilo, -dimetilamonio, isooctilo, -potasio y -sodio, daimurón (dimrón), dalapón, n-decanol, desmedifam, detosil-pirazolato (DTP), dicamba, diclobenilo, diclorprop, diclorprop-P, diclofop, diclofop-metilo, diclofop-P-metilo, diclosulam, difenzoquat, diflufenican, diflufenzopir, diflufenzopir-sodio, dimefurón, dimepiperato, dimetacloro, dimetametrina, dimetenamida, dimetenamid-P, dimetrasulfurón, dinitramina, dinoterb, difenamida, diquat, diquat-dibromid, ditiopir, diurón, DNOC, endotal, EPTC, esprocarb, etalfluralina, etametsulfurón, etametsulfurón-metilo, etiozina, etofumesato, etoxifén, etoxifén-etilo, etoxisulfurón, etobenzanid, F-5231, es decir, N-{2-cloro-4-fluoro-5-[4-(3-fluoropropil)-5-oxo-4,5-dihidro-1H-tetrazol-1-il]fenil}etanosulfonamida, F-7967, es decir, 3-[7-cloro-5-fluoro-2-(trifluorometil)-1H-bencimidazol-4-il]-1-metil-6-(trifluorometil)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona, fenoxaprop, fenoxaprop-P, fenoxaprop-etilo, fenoxaprop-P-etilo, fenoxasulfona, fentrazamida, flamprop, flamprop-M-isopropilo, flamprop-M-metilo, flazasulfurón, florasulam, fluazifop, fluazifop-P, fluazifop-butilo, fluazifop-P-butilo, flucarbazona, flucarbazona-sodio, flucetosulfurón, flucloralin, flufenacet (tiafluamida), flufenpir, flufenpir-etilo, flumetsulam, flumiclorac, flumiclorac-pentilo, flumioxazina, fluometurón, flurenol, flurenol-butilo, -dimetilamonio y -metilo, fluoroglicofén, fluoroglicofén-etilo, flupropanato, flupirsulfurón, flupirsulfurón-metil-sodio, fluridona, flurocloridona, fluroxipir, fluroxipir-meptilo, flurtamona, flutiacet, flutiacet-metilo, flutiamida, fomesafén, fomesafén-sodio, foramsulfurón, fosamina, glufosinato, glufosinato-amonio, glufosinato-P-sodio, glufosinato-P-amonio, glufosinato-P-sodio, glifosato, glifosato-amonio, -isopropilamonio, -diamonio, -dimetilamonio, -potasio, -sodio y -trimesio, H-9201, es decir, O-(2,4-dimetil-6-nitrofenil) O-etil isopropilfosforamidotioato, halosafén, halosulfurón, halosulfurón-metilo, haloxifop, haloxifop-P, haloxifop-etoxietilo, haloxifop-P-etoxietilo, haloxifop-metilo, haloxifop-P-metilo, hexazinona, HW-02, es decir, 1-(dimetoxifosforil) etil-(2,4-diclorofenoxi)acetato, imazametabenz, imazametabenz-metilo, imazamox, imazamox-amonio, imazapic, imazapic-amonio, imazapir, imazapir-isopropilamonio, imazaquín, imazaquín-amonio, imazetapir, imazetapir-amonio, imazosulfurón, indanofán, indaziflam, yodosulfurón, yodosulfurón-metil-sodio, ioxinilo, ioxinil-octanoato, -potasio y sodio, ipfencarbazona, isoproturón, isourón, isoxabén, isoxaflutol, karbutilato, KUH-043, es decir, 3-({[5-(difluorometil)-1-metil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il]metil}sulfonil)-5,5-dimetil-4,5-dihidro-1,2-oxazol, ketospiradox, lactofén, kenacilo, kinurón, MCPA, MCPA-butotilo, -dimetilamonio, -2-etilhexilo, -isopropilamonio, -potasio y -sodio, MCPB, MCPB-metilo, -etilo y -sodio, mecoprop, mecoprop-sodio, y -butotilo, mecoprop-P, mecoprop-P-butotilo, dimetilamonio, -2-etilhexil y -potasio, mefenacet, mefluidida, mesosulfurón, mesosulfurón-metilo, mesotriona, metabenztiazurón, metam, metamifop, metamitrón, metazacloro, metazosulfurón, metabenztiazurón, metiopirsulfurón, metiozolin, metil isotiocianato, metobromurón, metolacloro, S-metolacloro, metosulam, metoxurón, metribuzin, metsulfurón, metsulfurón-metilo, molinat, monolinurón, monosulfurón, monosulfurón-éster, MT-128, es decir, 6-cloro-N-[(2E)-3-cloroprop-2-en-1-il]-5-metil-N-fenilpiridazin-3-amina, MT-5950, es decir, N-(3-cloro-4-isopropilfenil)-2-metilpentan amida, NGGC-011, napropamida, NC-310, es decir, [5-(benciloxi)-1-metil-1H-pirazol-4-il](2,4-diclorofenil)metanona, neburón, nicosulfurón, ácido nonanoico (ácido pelargónico), norflurazón, ácido oleico (ácidos grasos), orbencarb, ortosulfamurón, orizalina, oxadiargilo, oxadiazón, oxasulfurón, oxaziclomefón, oxifluorfén, paraquat, dicloruro de paraquat, pebulato, pendimetalina, penoxsulam, pentaclorfenol, pentoxazona, petoxamida, aceites de petróleo, fenmedifam, picloram, picolinafén, pinoxadén, piperofós, pretilacloro, primisulfurón, primisulfurón-metilo, prodiamina, prifluralina, profoxidim, prometón, prometrina, propacloro, propanilo, propaquizafop, propazina, profam, propisocloro, propoxicarbazona, propoxicarbazona-sodio, propirisulfurón, propizamida, prosulfocarb, prosulfurón, piraclonilo, piraflufén, piraflufén-etilo, pirasulfotol, pirazolinato (pirazolato), pirazosulfurón, pirazosulfurón-etilo, pirazoxifén, piribambenz, piribambenz-isopropilo, piribambenz-propilo, piribenzoxim, piributicarb, piridafol, piridato, piriftalid, piriminobac, piriminobac-metilo, pirimisulfán, piritiobac, piritiobac-sodio, piroxasulfona, piroxsulam, quinclorac, quinmerac, quinoclamina, quizalofop, quizalofop-etilo, quizalofop-P, quizalofop-P-etilo, quizalofop-P-tefurilo, rimsulfurón, saflufenacilo, setoxidim, sidurón, simazina, simetrina, sulcotrión, sulfentrazona, sulfometurón, sulfometurón-metilo, sulfosulfurón, SW-065, SIN-523, SYP-249, es decir, 1-etoxi-3-metil-1-oxobut-3-en-2-il 5-[2-cloro-4-(trifluorometil)fenoxi]-2-nitrobenzoato, SYP-300, es decir, 1-[7-fluoro-3-oxo-4-(prop-2-in-1-il)-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-6-il]-3-propil-2-tioxoimidazolidina-4,5-diona, 2,3,6-TBA, TCA (ácido tricloroacético), TCA-sodio, tebutiurón, tefuriltriona, tembotriona, tepraloxidim, terbacilo, terbucarb, terbumetón, terbutilazin, terbutrina, tenilcloro, tiazopir, tiencarbazona, tiencarbazona-metilo, tifensulfurón, tifensulfurón-metilo, tiobencarb, topramezona, tralkoxidim, triafamona, tri-alato, triasulfurón, triaziflam, tribenurón, tribenurón-metilo, triclopir, trietazina, trifloxisulfurón, trifloxisulfurón-sodio, trifluralin, triflusulfurón, triflusulfurón-metilo, tritosulfurón, urea sulfato, vernolato, ZJ-0862, es decir, 3,4-dicloro-N-{2-[(4,6-dimetoxipirimidin-2-il)oxi]bencil}anilina; o reguladores del crecimiento vegetal que se seleccionan del grupo que consiste en zcibenzolar, acibenzolar-S-metilo, ácido 5-aminolevulínico, ancimidol, 6-bencilaminopurina, brasinolida, catequina, cloruro de clormequat, cloprop, ciclanilida, ácido 3-(ciclopropr-1-enil)propiónico, daminozida, dazomet, n-decanol, dikegulac, dikegulac-sodio, endotal, endotal-dipotasio, -disodio y mono (N,N-dimetilalquilamonio), etefón, flumetralina, flurenol, flurenol-butilo, flurprimidol, forclorfenurón, ácido giberélico, inabenfida, ácido indol-3-acético (IAA), ácido 4-indol-3-ilbutírico, isoprotiolano, probenazol, ácido jasmónico, hidrazida maleica, cloruro de mepiquat, 1-metilciclopropeno, metil jasmonato, 2-(1-naftil)acetamida, ácido 1-naftilacético, ácido 2- naftiloxiacético, mezcla de nitrofenolato, paclobutrazol, N-(2-feniletil)-beta-alanina, ácido N-fenilftalámico, prohexadiona, prohexadiona-calcio, prohidrojasmona, ácido salicílico, estrigolactona, tecnaceno, tidiazurón, triacontanol, trinexapac, trinexapac-etilo, tsitodef, uniconazol, uniconazol-P; o sales u otras formas agroquímicamente aceptables de estos. Por ejemplo, puede aplicarse una combinación de glifosato, mesotriona y S-metolacloro a una planta de soja que comprende una pila de reproducción que contiene, además de SYHT0H2, tolerancia al glifosato, por ejemplo, EPSPS (por ejemplo, GTS 40-3-2, MON89788, FG72, DP-356043-5).

Las composiciones herbicidas individualizadas precedentes pueden adicionalmente comprender herbicidas de HPPD adicionales, incluidos hasta 2, 3, 4, 5, 6 o 7 herbicidas inhibidores de HPPD. Ejemplos de 2 formas de combinaciones de herbicidas inhibidores de HPPD incluyen: mesotriona + sulcotriona, mesotriona + tembotriona, mesotriona + biciclopirona, mesotriona + topramezona, mesotriona + isoxaflutol, mesotriona + pirasulfatol, sulcotriona + tembotriona, sulcotriona + biciclopirona, sulcotriona + topramezona, sulcotriona + isoxaflutol, sulcotriona + pirasulfatol, tembotriona + biciclopirona, tembotriona + topramezona, tembotriona + isoxaflutol, tembotriona + pirasulfatol, biciclopirona + topramezona, biciclopirona + isoxaflutol, biciclopirona + pirasulfatol, topramezona + isoxaflutol, topramezona + pirasulfatol, isoxaflutol + pirasulfatol. Ejemplos de 3 formas de combinaciones de inhibidores de HPPD incluyen: mesotriona + sulcotriona + tembotriona, mesotriona + sulcotriona + topramezona, mesotriona + sulcotriona + biciclopirona, mesotriona + sulcotriona + isoxaflutol, mesotriona + sulcotriona + pirasulfatol, mesotriona + tembotriona + topramezona, mesotriona + tembotriona + biciclopirona, mesotriona + tembotriona + isoxaflutol, mesotriona + tembotriona + pirasulfatol, mesotriona + biciclopirona + topramezona, mesotriona + biciclopirona + isoxaflutol, mesotriona + biciclopirona + pirasulfatol, mesotriona + topramezona + isoxaflutol, mesotriona + topramezona pirasulfatol, mesotriona + isoxaflutol + pirasulfatol, sulcotriona + tembotriona + biciclopirona, sulcotriona + tembotriona + topramezona, sulcotriona + tembotriona + isoxaflutol, sulcotriona + tembotriona + pirasulfatol, sulcotriona + topramezona + biciclopirona, sulcotriona + topramezona + isoxaflutol, sulcotriona + topramezona + pirasulfatol, sulcotriona + biciclopirona + isoxaflutol, sulcotriona + biciclopirona + pirasulfatol, sulcotriona + isoxaflutol + pirasulfatol, tembotriona + biciclopirona + topramezona, tembotriona + biciclopirona + isoxaflutol, tembotriona + biciclopirona + pirasulfatol, tembotriona + topramezona + isoxaflutol, tembotriona + topramezona + pirasulfatol, biciclopirona + topramezona + isoxaflutol, biciclopirona + topramezona + pirasulfatol, topramezona + isoxafultol + pirasulfatol.

Ejemplos

Ejemplo 1. Preparación y caracterización del evento SYHT0H2 de la soja

Se construyeron vectores binarios para la transformación de la soja con un promotor, tal como un promotor sintético que contiene un CaMV 35S y un potenciador transcripcional FMV y una caja TATA sintética que genera la expresión de una secuencia de codificación de HPPD seguida de un terminador 3' del gen NOS. Un gen HPPD mutante derivado de HPPD *Avena* se optimizó con codones para la expresión de la soja en base a la secuencia de aminoácidos prevista de la región de codificación del gen HPPD. La enzima HPPD mutante incluye la eliminación de un residuo de alanina singular en las posiciones 109-111 de la enzima HPPD de *Avena sativa* nativa. Ver la Publicación de Solicitud de Patente de los Estados Unidos N.º 20100197503. El vector binario 15954 se construyó de forma que comprendiera casetes de expresión para expresar el gen HPPD mutante junto con un gen marcador seleccionable. Ver Figura 1. El vector se construyó utilizando una combinación de métodos conocidos por los expertos en la técnica como la superposición de PCR, síntesis de ADN, subclonación de fragmentos de restricción y ligadura.

Las abreviaturas utilizadas en la Figura 1 (vector 15954) se definen tal como se indica a continuación:

cAvHPPD-03
Inicio: 1036 Final: 2355
Gen HPPD Avena de soja optimizado con codón que codifica la SEQ ID NO 14

cPAT-03-01
Inicio: 3178 Final: 3729
Codones vegetales de S. viridochromogenes sintéticos PAT Hoescht AO2774; idénticos a la proteína fosfinotricina acetil transferasa Q57146.

cPAT-03-02
Inicio: 4761 Final: 5312
Proteína fosfinotricina acetil transferasa de S. viridochromogenes PAT Q57146, ADN de cPAT-03-01, pero muta los sitios BamH1, Bgl2

cSpec-03
Inicio: 6045 Final: 6833
Estreptomicina adenililtransferasa; de Tn7 (aadA)

cVirG-01
Inicio: 7133 Final: 7858
Gen G de virulencia de Agrobacterium tumefaciens (virGN54D, con codón de inicio TTG) virGN54D que proviene de pAD1289 descrito en Hansen *et al.*, 1994, *PROC. NATL. ACAD. SCI. U.S.A* 91:7603-7607

cRepA-01
Inicio: 788 Final: 8961
Proteína de replicación RepA, pVS1 con A a G en nt735

eTMV-02
Inicio: 965 Final: 1032 (Complementarios)
Virus del mosaico del tabaco (secuencia principal TMV_ Omega 5'UTR pensada para mejorar la expresión.

EMBL: TOTMV6
e35S-05
Inicio: 608 Final: 900 (Complementarios)
Región promotora 35S del virus del mosaico de la coliflor con cambios de pb de C a T y C a A.
eFMV-03
Inicio: 408 Final: 601 (Complementarios)
Promotor del virus del mosaico de la escrofularia
bNRB-05
Inicio: 4 Final: 259 (Complementarios)
Región del borde derecho de ADN-T del plásmido ti de nopalina de *Agrobacterium tumefaciens*.
bNRB-01-01
Inicio: 101 Final: 125 (Complementarios)
Repetición del borde derecho de ADN-T de plásmido ti de nopalina de Agrobacterium tumefaciens.

bNLB-03
Inicio: 5636 Final: 5765 (Complementarios)
Región del borde izquierdo de ADN-T de plásmido ti de nopalina de *Agrobacterium tumefaciens*.
(Zambryski *et al.*, 1980, Science, 209:1385-1391) EMBL no: J01825.
bNLB-01-01
Inicio: 5671 Final: 5695 (Complementarios)
Región del borde izquierdo de 25 pb de ADN-T de plásmido ti de nopalina *Agrobacterium tumefaciens*.
pr35S-04-01
Inicio: 2633 Final: 3153
Promotor 35S; promotor definido originalmente para mapa de igual longitud que 641 pb; no se encuentra coincidencia exacta en la bibliografía (LF, julio de 2004)
prCMP-06
Inicio: 4024 Final: 4677
Promotor del virus del rizado de hoja amarilla de Cestrum más secuencia líder. Promotor de la transcripción no de longitud completa. El par de bases 528 se cambió de G a C para retirar el sitio interno RsrII.
oVS1-02
Inicio: 9004 Final: 9408
Origen de replicación y región de partición del plásmido pVS1 de Pseudomonas (Itoh *et al.*, 1984, Plasmid 11: 206-220); similar al número de acceso de GenBank U10487; sirve como origen de replicación en huésped de Agrobacterium tumefaciens
oCOLE-06
Inicio: 10086 Final: 10892 (Complementarios)
Origen de replicación funcional de ColE1en E.coli
tNOS-05-01
Inicio: 2372 Final: 2624 (Complementarios)
Terminador de NOS: 3'UTR del gen de nopalina sintasa
tNOS-05-01
Inicio: 3763 Final: 4015
Terminador de NOS: 3'UTR del gen de nopalina sintasa
tNOS-05-01
Inicio: 5341 Final: 5593
Terminador de NOS: 3'UTR del gen de nopalina sintasa

El material de planta de soja se puede transformar adecuadamente y regenerar en plantas fértiles a través de muchos métodos conocidos por los expertos en la técnica. Por ejemplo, las plantas de soja fértiles transgénicas morfológicamente normales se pueden obtener a través de: 1) la producción de tejido embriogénico somático, por ejemplo, cotiledón, hipocótilo u otro tejido apropiado inmaduro; 2) la transformación por bombardeo de partículas o infección con *Agrobacterium*; y 3) la regeneración de las plantas. En un ejemplo, tal como se describe en la Patente de los Estados Unidos N.º 5.024.944, se elimina el tejido de cotiledón de los embriones inmaduros de soja, opcionalmente se extrae el eje embrionario y se cultiva en un medio con hormonas para formar material de plantas embriogénicas somáticas. Este material se transforma mediante el uso de, por ejemplo, métodos de ADN directos, bombardeo de microproyectiles cubiertos de ADN o infección con *Agrobacterium* y se cultiva en un medio de selección adecuado y se regenera, opcionalmente también con presencia continua de un agente de selección, para formar plantas de soja transgénicas fértiles. Los agentes de selección pueden ser antibióticos como kanamicina, higromicina, o herbicidas como un inhibidor de HPPD, fosfinotricina, o glifosato o, como alternativa, la selección se puede realizar en función de la expresión de un gen marcador que se pueda visualizar como GUS. Los tejidos objetivo para la transformación incluyen tejido meristemático, tejido embriogénico somaclonal y tejido de flor o formación de flores. Otros ejemplos de transformación de la soja incluyen los métodos de suministro físico de ADN, tales como bombardeo de partículas (ver, por ejemplo, Finer y McMullen, *In Vitro Cell Dev. Biol.*, 1991, 27P:175-182; McCabe *et al.*, *Bio/technology*, 1998, 6:923-926), filamentos (Khalafalla *et al.*, *African J. of Biotechnology*, 2006,

5:1594-1599), inyección de granos con aerosol (Patente de los Estados Unidos N.º 7.001.754), o a través de métodos de administración mediados por *Agrobacterium* (Hinchee *et al.*, *Bio/Technology,* 1988, 6:915-922; Patente de los Estados Unidos N.º 7.002.058; Publicaciones de Solicitud de Patente de Estados Unidos N.º 20040034889 y 20080229447; Paz *et al.*, *Plant Cell Report*, 2006, 25:206-213).

Las plantas de soja transgénicas se pueden generar con el vector binario 15954 descrito precedentemente que contiene un gen HPPD mutante utilizando cualquier método de transformación disponible. Opcionalmente, el gen HPPD puede ofrecer los medios de selección e identificación de tejido transgénico. Por ejemplo, se utilizó un vector para transformar semillas objetivo inmaduras tal como se describió para generar plantas de soja HPPD transgénicas mediante el uso directo de un inhibidor de HPPD, tal como mesotriona, como agente de selección (ver Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos N.º 20080229447). Opcionalmente, puede haber un gen HPPD en el polinucleótido junto con otras secuencias que ofrezca medios adicionales de selección/identificación del tejido transformado incluidos, por ejemplo, los genes conocidos que confieren resistencia a la kanamicina, higromicina, fosfinotricina, butafenacilo o glifosato. Por ejemplo, los diferentes vectores binarios que contienen genes marcadores seleccionables de PAT o EPSPS son conocidos en la técnica (ver, por ejemplo, Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos N.º 20080229447). En forma alternativa, las secuencias de marcadores seleccionables pueden encontrarse en polinucleótidos separados y utilizar un proceso de, por ejemplo, transformación y selección conjuntas. Un gen marcador pasible de puntuación como GU.S. también se puede utilizar para identificar tejido transformado.

Se extrajeron plantas T0 del cultivo de tejido y se llevaron al invernadero donde se transplantaron en suelo saturado de agua (lecho y mezcla de plantines REDI-EARTH®, Sun Gro Horticulture, Bellevue, WA, o mezcla para germinación de Fafard) mezclado con un 1% de MARATHON® granular (Olympic Horticultural Products, Co., Mainland, PA) en suelo de 5-10 g/gal en macetas de 2 pulgadas cuadradas. Las plantas se cubrieron con cúpulas para conservar la humedad y se colocaron en una cámara de Conviron (Pembina, ND) en las condiciones ambientales que se indican a continuación: 24 ^{o}C durante el día; 20 ^{o}C durante la noche; 16-23 horas de luz con fotoperíodos de oscuridad de 1-8 horas; 80% de humedad relativa.

Luego de que las plantas se asentaron en el suelo y aparecieron nuevos brotes (~1-2 semanas), se tomaron muestras de las plantas y se sometieron a prueba para comprobar la presencia del transgén deseado a través de un análisis de TAQMAN® utilizando sondas apropiadas para los genes o promotores HPPD (por ejemplo prCMP). Se transplantaron plantas positivas en macetas de 4 pulgadas cuadradas con suelo Fafard N.º 3. Se incorporó fertilizante de liberación lenta Sierra 17-6-12 en el suelo en la cantidad recomendada. Luego se reubicaron las plantas en un invernadero estándar para que se aclimataran (~1 semana). Las condiciones ambientales fueron las siguientes: 27 ^{o}C durante el día; 21 ^{o}C durante la noche; fotoperíodo de 14 horas (con luz complementaria); humedad ambiente. Luego de que se aclimataran (~1 semana), se tomaron muestras de las plantas y se sometieron a prueba en detalle para detectar la presencia y copiar el número de transgenes insertados. Las plantas de soja transgénica se cultivaron hasta su madurez para producir la semilla T1. Se cultivaron plantas T1 y luego del análisis de TAQMAN®, se cultivaron plantas homocigóticas para la producción de semillas. Se utilizaron las semillas transgénicas y plantas de progenie para evaluar adicionalmente la tolerancia a los herbicidas y las características moleculares. De una población de aproximadamente 90 transformantes, el evento SYHT0H2 presentó un alto nivel de tolerancia a la mesotriona.

Se obtuvieron secuencias de inserto y flanqueo del evento SYHT0H2 mediante una combinación de dos métodos; generación de biblioteca lambda y GENOMEWALKER^{TM} (Clontech). La secuenciación del evento SYHT0H2 se llevó a cabo usando el método de Sanger de secuenciación de ADN. El análisis de secuencias se realizó usando el programa de análisis de secuencias SEQUENCHER® (Gene Codes Corporation). Se aisló ADN genómico del evento SYHT0H2 de la soja con el fin de generar una biblioteca lambda mediante el aislamiento de ADN genómico y la digestión de restricción con las enzimas de restricción BamHI o EcoRI y KpnI hasta completar, tal como lo describió el proveedor de las enzimas de restricción (NEB). La digestión parcial del ADN genómico se completó usando BfuCI a 0,15U/□g de ADN a 37 ^{o}C. Las muestras se retiraron a los 2, 4, 6, 8 y 10 minutos luego de la adición de la enzima. Las muestras se agruparon para la carga en gel. Las muestras digeridas se cargaron en 1% de gel de agarosa en TAE y se ejecutaron durante toda la noche a 20V. Las fracciones se aislaron para cada digerido, BfuCI; 2-4 kb, BamHI; 0,7-3,5 kb y EcoRI-KpnI; 3-6 kb. Se recuperó el ADN del gel usando el kit de extracción de gel QIAQUICK® tal como lo describe el proveedor (Qiagen). Las fracciones aisladas se ligaron al vector Lambda Zap Express (Stratagene) cortado con BamHI o EcoRI-KpnI. Las ligaciones se prepararon usando una relación de 1000 ng de vector por 100 ng de inserto en un volumen de 10 µl con 200U de ligasa incubada durante toda la noche a 6 ^{o}C.
Las bibliotecas se cargaron usando Maxplaq tal como lo describe el proveedor (Epicentre). Las bibliotecas se titularon usando células XL-1MRA (Stratagene). Las células se hicieron crecer durante 6 horas a 37 ^{o}C en caldo de cultivo NZY más 0,2% de maltosa. Las células se centrifugaron a 4K y se resuspendieron en solución amortiguadora SM (Stratagene). Los fagos se diluyeron 1/100 en solución amortiguadora SM y se mezclaron 10 µl con 100 µl de células, se incubaron a 37 °C durante 15 minutos, se agregaron 3,5 ml de agarosa NZY Top (50 °C), se mezcló mediante inversión y se esparció por placas de L-agar que luego se incubaron durante toda la noche a 37 °C.

Se realizó una detección sistemática en la biblioteca en busca de clones individuales que contuvieron la secuencia heteróloga insertada. Las células bacterianas utilizadas para plantar la biblioteca fueron XL-1MRA adquiridas a

Stratagene. Las células XL-1MRA se cultivaron en caldo de cultivo NZY más 0,2% de maltosa durante 6 horas antes de su uso. Las células bacterianas infectadas se plantaron en placas de L-agar preparadas vertiendo L-agar en placas de 25x150 mm calentadas previamente a 37 °C antes de su uso. Las células bacterianas se recolectaron mediante centrifugación a 4K y resuspensión de las células en solución amortiguadora SM (Stratagene). Se combinaron 300 µl de células bacterianas y 50.000 fagos en un tubo de 15 ml (Fisher Scientific) y se incubó a 37 °C durante 15 minutos. Se agregaron 9 ml de agarosa NZY Top y se mezcló mediante inversión y la mezcla resultante se esparció por la superficie de placas grandes para mantener una superficie lisa. Se construyeron 10 placas por biblioteca para un total de 500.000 fagos detectados sistemáticamente por biblioteca. Las placas inoculadas se incubaron durante toda la noche a 37 °C. Al día siguiente, las plantas se retiraron y colocaron a 4 °C durante al menos 1 hora.

Las placas formadas en las placas inoculadas se transfirieron a membranas Hybond NX (GE Amersham) mediante colocación de la membrana en la superficie de la placa. Una vez que quedó uniformemente húmeda, la membrana se incubó durante 2 minutos. La orientación de la placa se marcó con una aguja y tinta china pinchando la aguja con la tinta en la membrana y el agar en tres lugares distintos. La membrana marcada se retiró de la placa y se colocó con el lado de los fagos hacia arriba en papel Whatman en remojo con NaOH 0,5 M durante 5 minutos (método Bio-Rad) con posterior transferencia a papel Whatman en remojo con 2X SSC y luego se secó al aire y se reticularon el ADN y la membrana usando un Stratalinker (Stratagene) a 160 mJ.

Para identificar los clones de fagos lambda que contenían el ADN heterólogo insertado, los filtros de lo anterior se sondearon de la siguiente manera: los filtros se prehibridaron en 7% SDS, fosfato de sodio 250 mM pH 7,0, 1% BSA a 62 ^{o}C durante 4 horas. La solución de prehibridación se reemplazó por una nueva solución de hibridación antes de la adición de la sonda radiactiva.

Las sondas se prepararon mediante PCR con los cebadores MT_SOY_ F2 y MT_SOY_R3 usando pSYN15764 como plantilla:
P_MTSOY_F2
TTTTGTGGTCGTCACTGCGTT
(SEQ ID NO: 25)
P_MTSOY_R3
CAGGATATATTGTGGTGTAAACAAATTGACGCTTAGACAA
(SEQ ID NO: 26)

Las condiciones de reacción fueron las siguientes: 1X solución amortiguadora Expand, dNTP 200 uM, 50 ng de plantilla, 10 pM de cebadores, 1,5U de polimerasa de ADN Expand (Roche) en un volumen de reacción de 50 µl.

Las condiciones de los ciclos fueron 35 ciclos a [94 °C, 30 segundos; 55 °C, 30 segundos, 72 °C, 2 minutos].

El fragmento amplificado se aisló en 1% de gel de agarosa-TAE. Se purificó ADN a partir de agarosa usando el kit de extracción de gel QIAQUICK (QIAGEN). La sonda se etiquetó con cebador aleatoriamente usando el kit REDIPRIME™ II (GE Amersham) con dCT^{32}P radiactivo. La sonda se separó de la etiqueta sin incorporar usando columnas de centrifugación G-50 de GE Amersham. La sonda se calentó durante 5 minutos a 95 °C antes de la adición de solución amortiguadora de hibridación. La hibridación se desarrolló durante toda la noche a 62 °C. Los filtros se lavaron primero con 2X SSC, 0,5% SDS durante 30 minutos a 62 °C y luego con 0,2X SSC, 0,2% SDS durante 30 minutos a 62 °C. Los filtros se envolvieron en un envoltorio plástico y se expusieron a una película Kodak Biomax XAR durante 16-24 horas a -80 °C con pantallas intensificadoras.

Los lugares positivos se taparon con un tapón de 8 mm de diámetro y se colocaron en 500 µl de solución amortiguadora SM más 25 µl de cloroformo y se dejaron eluir durante toda la noche a 6 ºC. Los fagos se diluyeron 1/7500 en solución amortiguadora SM para una 2.ª ronda de detección sistemática. Se detectaron sistemáticamente un total de 1000 ufp (unidades formadoras de placas) en la 2.ª ronda. La 2.ª ronda de detección sistemática repite el proceso utilizado en la detección sistemática primaria. Esto se lleva a cabo para cada clon positivo identificado en la detección sistemática primaria. Este proceso puede repetirse hasta que se aísla una sola placa positiva.

El fago se convirtió en plásmido usando el protocolo descrito en el manual del Zap Express Vector Kit (Stratagene). Los plásmidos aislados se secuenciaron y la secuencia se ensambló usando el programa SEQUENCHER® (Gene Codes Corporation).

Además del método de secuenciación descrito anteriormente, el sitio de inserción de la secuencia del polinucleótido insertado heterólogo del evento SYHT0H2 de la soja también se secuenció usando un kit universal BD GENOMEWALKER™. Usando el kit GENOMEWALKER™ se recuperó la secuencia de flanqueo del borde izquierdo 1 (BI1) para el evento SYHT0H2. Tal como se indica en las instrucciones del kit, se aisló ADN genómico del evento SYHT0H2 de la soja y se digirió hasta completarse mediante combinación de 8 µl de ADN (~10 ng/µl), 1 µl de solución amortiguadora de EcoRV 10X y 1 µl de EcoRV en un tubo estéril de microcentrífuga e incubación a 37 ^{o}C durante toda la noche.

El ADN digerido por EcoRV se ligó al adaptador GENOMEWALKER™ de BD tal como se describe en las instrucciones del fabricante. Para amplificar el ADN que contenía la secuencia de polinucleótidos insertada heteróloga del evento SYHT0H2 de la soja, se diseñaron dos cebadores específicos para los genes (GSP1 y GSP2) en base a la secuencia de la región del borde izquierdo de la secuencia de vector de transformación 15954. El GSP2 está anidado en un producto de PCR generado mediante la amplificación del GSP1 y un cebador diseñado en base a la secuencia del adaptador GENOMEWALKER™ de BD.

Tabla 4

Nombre del cebador	Secuencia del cebador
GSP1/FlkSeq0027	GAGTCCCGCAATTATACATTTAATACGCGATAGAA SEQ ID NRO. 27
GSP1/ FlkSeq0005	GGCCAGCATGGCCGTATCCGCAATGTGTT SEQ ID NRO. 28

Se generaron amplicones de PCR en dos etapas que consistieron en una PCR primaria y una PCR secundaria (anidada) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los productos de PCR de la PCR secundaria se secuenciaron.

La información de las secuencias generada tanto por la secuencia de biblioteca lambda como por la secuenciación del GENOMEWALKER™ se combinaron para generar la secuencia del sitio de inserción del evento SYTH0H2 de la soja. La secuencia de nucleótidos del inserto completo se presenta como SEQ ID NO: 9 y la secuencia de nucleótidos del inserto flanqueado por el ADN genómico se presenta como SEQ ID NO: 10. En las SEQ ID NOs: 1-6 (ver Tabla 1, página 3) se incluyen secuencias de nucleótidos adicionales que describen las uniones BI2 y BI1 del inserto y ADN genómico flanqueador.

Ejemplo 2. Análisis de PCR específico para los eventos

Se utilizó ADN genómico de transformantes *Glycine max* como plantilla para el análisis de PCR en un ensayo TAQMAN® utilizando los pares de cebadores que se muestran en la Tabla 5 y las condiciones de ciclos que se muestran en la Tabla 6. Una mezcla de reacción típica incluyó 1X JUMPSTART™ READYMIX™, 300 nm de Cebador 1, 300 nm de Cebador 2, 100 nm de sonda y aproximadamente 30 ng de plantilla de ADN en un volumen total de 10 □l. Para el ensayo A1720, el cebador P10325 se encuentra en el inserto y se utiliza para amplificar el BI1 del inserto de ADN-T, mientras que el cebador P12721 se encuentra en el genoma en el sitio de inserción. El ensayo A1720 genera un producto de PCR que tiene 66 pb de longitud:

CGGGCGGCCAGCATGGCCGTATCCGCAATGTGTTATTAAGTTGTCTAAACCCTAAACCAATGG CAC (SEQ ID NO: 24).

Para el ensayo A1721, el cebador P10043 se encuentra en el inserto y se utiliza para detectar el BI2 del inserto de ADN-T, mientras que el cebador P12723 se encuentra en el genoma en el sitio de inserción). El ensayo A1721 genera un producto de PCR que tiene 70 pb de longitud:

GGATGAAGAGATGAGAGAACCATCACAGAATTGACGCTTAGACAACTTAATAACACATTGCGG ATACGGC (SEQ ID NO:25)

Tabla 5

ID del ensayo	ID de cebador/sonda	Secuencia (5'- a - 3')
A1720	P10325 (cebador)	CGGGCGGCCAGCAT (SEQ ID NO: 11)
	P12721 (cebador)	GTGCCATTGGTTTAGGGTTTAGAC (SEQ ID NO: 12)
	P12722 (sonda)	FAM-ATCCGCAATGTGTTATTAA-MGB* (SEQ ID NO: 13)
ID del ensayo	ID de cebador/sonda	Secuencia (5'- a - 3')
A1721	P10043 (cebador)	GCCGTATCCGCAATGTGTTA (SEQ ID NO: 14)
	P12723 (cebador)	GGATGAAGAGATGAGAGAACCATCA (SEQ ID NO: 15)
	P12724 (sonda)	FAM-TAAGTTGTCTAAGCGTCAATT-MGB* (SEQ ID NO: 16)

FAM, 6-carboxifluoresceína
MGB, ligando de unión al surco menor de tripéptido de dihidrociclopirroloindol
*También puede usarse una sonda etiquetada con BGB

Tabla 6

Ciclo	Etapa	Temperatura (°C)	Tiempo	Ciclos repetidos
A	1	95	10 minutos	--
B	1	95	15 segundos	40
B	2	60	1 minuto	40

Como alternativa, se utilizó ADN genómico de transformantes *Glycine max* como plantilla para ensayos en base a gel utilizando los pares de cebadores que se muestran en la Tabla 7 y las condiciones de ciclos que se muestran en la Tabla 8. Una mezcla de reacción típica incluyó 1X JUMPSTART™ READYMIX™, 10 □M de Cebador 1, 10 □M de Cebador 2, 1 □L de 10 ng/□L de plantilla de ADN genómico en un volumen total de 20 □l.

Tabla 7

Objetivo	Cebador 1 (ADN-T)	Cebador 2 (genoma)
SYHT0H2_LBFS_1	FE0845 (SEQ ID NO: 17)	FE3427 (SEQ ID NO: 18)
SYHT0H2_LBFS_1	FE0845 (SEQ ID NO: 17)	FE3443 (SEQ ID NO: 19)
SYHT0H2_LBFS_2	FE0845 (SEQ ID NO: 17)	FE3429 (SEQ ID NO: 20)
SYHT0H2_LBFS_2	FE0845 (SEQ ID NO: 17)	FE3442 (SEQ ID NO: 21)

Tabla 8

Ciclo	Etapa	Temperatura (°C)	Tiempo	Ciclos repetidos
A	1	94	3 minutos	--
B	1	94	30 segundos	35
B	2	58	30 segundos	35
B	3	68	1 minuto	35
C	1	68	7 minutos	--
D	1	4	10 minutos	--

Ejemplo 3. Eficacia en campo del evento SYHT0H2

Se sometieron a prueba las plantas de soja con el evento SYHT0H2 para estudiar su eficacia respecto a la mesotriona en 5 ubicaciones de los Estados Unidos. La línea de soja no transgénica, Jack, se utilizó como testigo. Las plantas de soja, tanto SYHT0H2 como Jack, se trataron con 210 g ia/ha de mesotriona en etapa V2/V3 y luego se evaluaron para estudiar el porcentaje de hojas que presentaban daños a los 4-7 días después del tratamiento (DDT), 13-17 DDT y 25-33 DDT. Los resultados de la Tabla 9 demuestran la eficacia de 0H2 contra la mesotriona en comparación con la línea testigo.

Tabla 9

Genotipo	% de daños		
	4-7 DDT	13-17 DDT	25-33 DDT
Jack	46,5	81	62,4
SYHT0H2	13,2	4,7	0

Se sometieron a prueba las plantas de soja con SYHT0H2 para estudiar su eficacia contra el glufosinato en 8 ubicaciones de los Estados Unidos. La línea de soja no transgénica, Jack, se utilizó como testigo. Las plantas de soja, tanto SYHT0H2 como Jack, se trataron con 900 g ia/ha de glufosinato en la etapa V2/V3 y luego con un segundo tratamiento en la etapa V5-V6. Luego se evaluaron para estudiar el porcentaje de hojas que presentaban daños a los 4-8 días después del tratamiento (DDT), 13-20 DDT y 26-35 DDT. Los resultados de la Tabla 10 demuestran la eficacia de SYHT0H2 contra el glufosinato en comparación con la línea testigo.

Tabla 10

Genotipo	% de daños		
	4-8 DDT	13-20 DDT	26-35 DDT
Jack	100	100	100
SYHT0H2	9	5	0

Ejemplo 4. Marcadores para mapeo y selección de reproducción

La secuencia de flanqueo del BI2 (SEQ ID NO: 7) o la secuencia de flanqueo del BI1 (SEQ ID NO: 8) del inserto SYHT0H2 se alinearon con respecto a la base de datos de genomas de soja 8x (es decir, la base de datos de "Fitosomas" administrada por el Joint Genome Institute y el Center for Integrative Genomics disponible en Internet; ver también Schmutz et al. (2010) *Nature* 463:178-183) usando la Herramienta Básica de Búsqueda de Alineación Local (BLAST; Altschul et al., *J. Mol. Biol.*, 1990, 215:403-410; Altschul et al., *Nucleic Acids Res.*, 1997, 25:3389-3402), también disponible en Internet. BI2 se alineó con el cromosoma número 8 (grupo de conexión A2) del nucleótido 9.905.212 al 9.905.310. BI1 se alineó con el cromosoma 8 (grupo de conexión A2) del nucleótido 9.905.326 al 9.905.788. Luego se compararon las posiciones físicas con las de los marcadores del Mapa de Consenso de la Soja 4.0 (Hyten *et al. Crop Sci.*, 2010, 50:960-968). Se identificó la posición en centimorgans del marcador más cercano y en la Tabla 9 se incluyen todos los marcadores que se encuentran en un entorno de 10 centimorgans. Estos datos demuestran que la inserción de la secuencia de polinucleótidos heteróloga del evento SYHT0H2 se produjo en el cromosoma 8 de soja en una posición entre los pares de bases 9.905.310 y 9.905.326, que corresponde a la secuencia entre los nucleótidos 99 y 116 de la SEQ ID NO: 24. Una vez insertada la secuencia heteróloga que contenía la secuencia HPPD, se eliminaron 16 pares de bases de la secuencia genómica que corresponde a los nucleótidos 100-115 de la SEQ ID NO: 24.

El evento SYHT0H2 se introduce en una planta de soja a través del uso de uno o más de los marcadores disponibles en el mercado identificados en la Tabla 11 y las técnicas convencionales de reproducción. El evento SYHT0H2 es el más cercano al marcador molecular BARC-65571-19573 y se encuentra entre los marcadores moleculares BARC-65571-19573 y BARC-43119-08535. Los abordajes y técnicas de reproducción se conocen bien en la técnica. Ver, por ejemplo, Fehr, en Breeding Methods for Cultivar Development, 1987, Wilcos, J. (ed.), American Society of Agronomy, Madison, WI; Welsh J. R., Fundamentals of Plant Genetics and Breeding, John Wiley & Sons, NY (1981); Wood D. R. (Ed.), Crop Breeding, American Society of Agronomy Madison, Wis. (1983); Mayo O., The Theory of Plant Breeding, Segunda edición, Clarendon Press, Oxford (1987); Singh, D. P., Breeding for Resistance to Diseases and Insect Pests, Springer-Verlag, NY (1986); y Wricke y Weber, Quantitative Genetics and Selection Plant Breeding, Walter de Gruyter y Co., Berlín (1986).

Tabla 11

Nombre de Marcador Público	LG	cM	Tipo
Sat_400	A2	43,8	SSR
BARC-032503-08989	A2	44,5	SNP
BARC-045047-08867	A2	45,6	SNP
BARC-028361-05839	A2	45,7	SNP
BARC-028361-05840	A2	45,7	SNP
BARC-028361-05841	A2	45,7	SNP
BARC-028361-05842	A2	45,7	SNP
BARC-028361-05843	A2	45,7	SNP
BARC-028361-05844	A2	45,7	SNP

BARC-028361-05845	A2	45,7	SNP
BARC-028361-05846	A2	45,7	SNP
BARC-028361-05847	A2	45,7	SNP
BARC-028361-05848	A2	45,7	SNP
BARC-028361-05849	A2	45,7	SNP
BARC-028361-05850	A2	45,7	SNP
BARC-028361-05851	A2	45,7	SNP
BARC-018419-02910	A2	46,0	SNP
BARC-018419-02911	A2	46,0	SNP
BARC-018419-02912	A2	46,0	SNP
BARC-016861-02355	A2	46,1	SNP
Satt632	A2	46,3	SSR
Sat_157	A2	46,4	SSR
BARC-021329-04038	A2	46,4	SNP
BARC-021329-04039	A2	46,4	SNP
BARC-016685-03321	A2	46,4	SNP
Sat_162	A2	46,6	SSR
BARC-018023-02498	A2	46,7	SNP
BARC-018023-02499	A2	46,7	SNP
BARC-028309-05824	A2	46,8	SNP
BARC-028309-05825	A2	46,8	SNP
BARC-028309-05826	A2	46,8	SNP
BARC-040339-07714	A2	47,0	SNP
BARC-040339-07715	A2	47,0	SNP
BARC-030485-06876	A2	47,2	SNP
BARC-050171-09440	A2	47,3	SNP
BARC-012193-01743	A2	47,6	SNP
BARC-010097-00518	A2	47,6	SNP
Sat_215	A2	47,9	SSR
BARC-059853-16139	A2	48,0	SNP
BARC-015419-01822	A2	48,2	SNP
BARC-027690-06633	A2	49,0	SNP
BARC-021831-04219	A2	49,0	SNP
BARC-021831-04220	A2	49,0	SNP
BARC-027726-06646	A2	49,3	SNP
BARC-057257-14650	A2	49,3	SNP
Satt187	A2	49,9	SSR
BARC-027618-06620	A2	50,0	SNP
BARC-027618-06621	A2	50,0	SNP
BARC-027618-06622	A2	50,0	SNP
BARC-027618-06623	A2	50,0	SNP
BARC-027618-06624	A2	50,0	SNP
BARC-026091-05255	A2	50,4	SNP
Sat_212	A2	50,7	SSR

BARC-065571-19573	A2	51,3	SNP
BARC-040029-07638	A2	52,2	SNP
BARC-040029-07639	A2	52,2	SNP
BARC-040029-07640	A2	52,2	SNP
BARC-043119-08535	A2	52,3	SNP
BARC-038631-07266	A2	52,4	SNP
BARC-053809-12037	A2	52,4	SNP
BARC-018083-02511	A2	52,5	SNP
BARC-018083-02512	A2	52,5	SNP
BARC-013857-01257	A2	52,6	SNP
BARC-013857-01258	A2	52,6	SNP
BARC-017983-02492	A2	53,0	SNP
BARC-039145-07456	A2	53,1	SNP
BARC-039145-07457	A2	53,1	SNP
BARC-029007-06050	A2	53,4	SNP
Satt424	A2	53,6	SSR
BARC-020307-04547	A2	55,1	SNP
BARC-020307-04548	A2	55,1	SNP
BARC-020307-04549	A2	55,1	SNP
BARC-020307-04550	A2	55,1	SNP
BARC-020307-04551	A2	55,1	SNP
BARC-045081-08872	A2	55,1	SNP
BARC-019749-04349	A2	56,4	SNP
BARC-019749-04350	A2	56,4	SNP
BARC-019749-04351	A2	56,4	SNP
BARC-019749-04352	A2	56,4	SNP
BARC-019749-04353	A2	56,4	SNP
BARC-019749-04354	A2	56,4	SNP
BARC-019749-04355	A2	56,4	SNP
BARC-019749-04356	A2	56,4	SNP
BARC-019749-04357	A2	56,4	SNP
BARC-019749-04358	A2	56,4	SNP
BARC-019749-04359	A2	56,4	SNP
BARC-019749-04360	A2	56,4	SNP
BARC-019749-04361	A2	56,4	SNP
BARC-013587-01167	A2	56,6	SNP
BARC-013587-01169	A2	56,6	SNP
BARC-013587-01170	A2	56,6	SNP
BARC-029671-06301	A2	56,7	SNP
BARC-029671-06302	A2	56,7	SNP
BARC-029671-06303	A2	56,7	SNP
BARC-029671-06304	A2	56,7	SNP
BARC-029671-06305	A2	56,7	SNP
BARC-029671-06306	A2	56,7	SNP

BARC-029671-06307	A2	56,7	SNP
BARC-029671-06308	A2	56,7	SNP
BARC-029671-06309	A2	56,7	SNP
BARC-029671-06310	A2	56,7	SNP
BARC-029671-06311	A2	56,7	SNP
BARC-039393-07313	A2	56,7	SNP
BARC-027614-06615	A2	56,9	SNP
BARC-027614-06616	A2	56,9	SNP
BARC-027614-06617	A2	56,9	SNP
BARC-027614-06618	A2	56,9	SNP
BARC-027614-06619	A2	56,9	SNP
BARC-016661-02162	A2	57,2	SNP
BARC-016661-02163	A2	57,2	SNP
BARC-044327-08668	A2	58,2	SNP
BARC-044869-08827	A2	58,9	SNP
BARC-044869-08828	A2	58,9	SNP
BARC-018941-03041	A2	59,3	SNP
BARC-018941-03042	A2	59,3	SNP
BARC-030759-06940	A2	60,1	SNP
BARC-030759-06941	A2	60,1	SNP
BARC-030759-06942	A2	60,1	SNP
BARC-014665-01611	A2	61,1	SNP
BARC-014665-01612	A2	61,1	SNP
BARC-014665-01613	A2	61,1	SNP
BARC-014665-01614	A2	61,1	SNP
BARC-014665-01615	A2	61,1	SNP
BARC-014665-01616	A2	61,1	SNP
BARC-014665-01617	A2	61,1	SNP
BARC-014665-01618	A2	61,1	SNP
BARC-029865-06449	A2	61,5	SNP
BARC-044217-08646	A2	61,9	SNP
BARC-013567-01162	A2	62,2	SNP
BARC-013567-01163	A2	62,2	SNP

Ejemplo 5.Utilización del sitio de inserción del evento SYHT0H2 para la integración dirigida en soja

Las secuencias flanqueadoras del evento SYHT0H2 descritas en la SEQ ID NO: 7 y SEQ ID NO: 8 se utilizan para la búsqueda en las bases de datos de genomas de soja. En un clon de cromosomas artificiales bacterianos se identificaron coincidencias idénticas para ambas secuencias flanqueadoras y en la ubicación se identificaron marcadores moleculares. Se crearon y utilizaron marcadores adicionales para realizar un mapeo fino del sitio de inserción.

En forma congruente con el desempeño agronómico durante varias generaciones en condiciones de campo del transgén del evento SYHT0H2, el sitio de integración del evento SYHT0H2 ofrece un locus genómico útil para la integración de transgenes de interés que no sean la enzima HPPD mutante del evento SYHT0H2. Esta integración dirigida subsana los problemas de los conocidos "efectos de posición" y el riesgo de crear una mutación en el genoma una vez integrado el transgén al huésped. Las ventajas adicionales de dicha integración dirigida incluyen, a modo no taxativo, reducir la gran cantidad de eventos de transformación que se deben analizar y someter a prueba antes de obtener una planta transgénica que presente el nivel deseado de expresión transgénica sin además

presentar anormalidades que surjan de la inserción involuntaria del transgén en un locus importante del genoma huésped. Más aun, esta integración dirigida permite que los transgenes de apilamiento proporcionen la reproducción de líneas de plantas de elite con ambos genes en forma más eficiente.

Utilizando las enseñanzas descritas anteriormente, un experto en la materia podrá utilizar los métodos conocidos en la técnica para dirigir los transgenes al mismo sitio de inserción que SYHT0H2 o a un sitio cercano al sitio de inserción de SYHT0H2. Uno de estos métodos se divulga en la Publicación de Solicitud de Patente de Estados Unidos N.º 20060253918. En resumen, hasta 20 Kb de la secuencia genómica que flanquea 5' hasta el sitio de inserción (por ejemplo, SEQ ID NO: 7, secuencias genómicas que comprenden la SEQ ID NO: 7, y las secuencias genómicas homólogas a la SEQ ID NO: 7) y hasta 20 Kb de la secuencia genómica que flanquea 3' hasta el sitio de inserción (por ejemplo, SEQ ID NO: 8, secuencias genómicas que comprenden la SEQ ID NO: 8, y las secuencias genómicas homólogas a la SEQ ID NO: 8) se utilizan para flanquear el gen o genes de interés que se desean insertar a través de recombinaciones homólogas, cuyo sitio de integración se encuentra en el sitio del evento SYHT0H2 o cerca de este. Estas secuencias se pueden flanquear adicionalmente a través de repeticiones del borde de ADN-T tales como las secuencias repetidas del borde izquierdo (BI) y borde derecho (BD) y otras secuencias reforzadoras para mejorar la eficiencia del suministro de ADN-T. El gen o genes de interés se pueden ubicar exactamente como en el sitio de inserción de SYHT0H2 o se pueden colocar en cualquier lugar dentro de las regiones de 20 Kb cercanas a los sitios de inserción de SYHT0H2 para ofrecer un nivel congruente de expresión transgénica sin perjudicar los efectos en la planta. Los vectores de ADN que contienen el gen o genes de interés y las secuencias flanqueadoras se pueden colocar en células vegetales a través de uno de los diferentes métodos conocidos por los expertos en la técnica incluyendo, a modo no taxativo, el método de transformación mediada por agrobacterium. La inserción del vector de ADN en el sitio objetivo de SYHT0H2 se puede mejorar adicionalmente mediante uno de los diferentes métodos que incluyen, a modo no taxativo, la coexpresión o regulación hacia arriba de los genes mejorados por recombinación o regulación hacia abajo de los genes endógenos de supresión de la recombinación. Más aun, en la técnica se sabe que la escisión de secuencias específicas del genoma se puede utilizar para aumentar la frecuencia de recombinación homóloga, por tanto la inserción en el sitio de inserción de SYHT0H2 y sus regiones flanqueadoras se pueden mejorar mediante la expresión de endonucleasas naturales o artificiales, específicas para las secuencias, para escindir estas secuencias.

Ejemplo 7. Utilización del sitio de inserción y secuencias flanqueadoras del evento SYHT0H2 para estabilizar la expresión génica

Las secuencias flanqueadoras genómicas del sitio de inserción de SYHT0H2 también se pueden utilizar para estabilizar la expresión de otro u otros genes de interés cuando se insertan como un transgén en ubicaciones genómicas de la soja que no sean el sitio de integración de SYHT0H2, al igual que en otros cultivos. Específicamente, hasta 20 Kb de la secuencia genómica que flanquea 5' hasta el sitio de inserción (por ejemplo, SEQ ID NO: 7, secuencias genómicas que comprenden la SEQ ID NO: 7, y las secuencias genómicas homólogas a la SEQ ID NO: 7) y hasta 20 Kb de la secuencia genómica que flanquea 3' hasta el sitio de inserción (por ejemplo, SEQ ID NO: 8, secuencias genómicas que comprenden la SEQ ID NO: 8, y las secuencias genómicas homólogas a la SEQ ID NO: 8) se utilizan para flanquear el gen o genes de interés que se desean insertar al genoma de las plantas. Estas secuencias se pueden flanquear adicionalmente a través de repeticiones del borde de ADN-T tales como las secuencias repetidas del borde izquierdo (BI) y borde derecho (BD) y otras secuencias reforzadoras para mejorar la eficiencia del suministro de ADN-T. El gen o genes de interés se pueden ubicar exactamente como en el sitio de inserción de SYHT0H2 o se pueden colocar en cualquier lugar dentro de las regiones de 20 Kb de los laterales del sitio de inserción de SYHT0H2 para ofrecer un nivel congruente de expresión transgénica. Los vectores de ADN que contienen el gen o genes de interés y la secuencia de flanqueo del sitio de inserción de SYHT0H2 se pueden colocar en células vegetales a través de uno de los diferentes métodos conocidos por los expertos en la técnica incluido, a modo no taxativo, el método de transformación de protoplastos, bombardeo biolístico y transformación mediada por agrobacterium. El ADN suministrado se puede integrar aleatoriamente a un genoma vegetal o también se puede presentar como parte de las unidades genéticas de segregación independientes como un cromosoma artificial o minicromosoma. Los vectores de ADN que contienen uno o más genes de interés y las secuencias flanqueadoras del sitio de inserción de SYHT0H2 se pueden suministrar en células vegetales. Así, al rodear un gen o genes de interés con la secuencia genómica flanqueando el sitio de inserción de SYHT0H2, la expresión de dichos genes se estabiliza en una planta transgénica huésped, que incluye plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Syngenta Participations AG

<120> EVENTO SYHT0H2 DE LA SOJA Y COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA SU DETECCIÓN

<130> 72722WOPCT

<150> US61/423.131
<150> US61/467.621

<160> 28

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Derivada de Glycine max y Avena sativa

<400> 1
accatcacag aattgacgct 20

<210> 2
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Derivada de Glycine max y Avena sativa

<400> 2
taaaccctaa accaatggca 20

<210> 3
<211> 40
<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Derivada de Glycine max y Avena sativa

<400> 3
agatgagaga accatcacag aattgacgct tagacaactt 40

<210> 4
<211> 40
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Derivada de Glycine max y Avena sativa

<400> 4
ttaagttgtc taaaccctaa accaatggca cacaaaaatt 40

<210> 5
<211> 60
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Derivada de Glycine max y Avena sativa

<400> 5
taggatgaag agatgagaga accatcacag aattgacgct tagacaactt aataacacat 60

<210> 6
<211> 60
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Derivada de Glycine max y Avena sativa

<400> 6

caatgtgtta ttaagttgtc taaaccctaa accaatggca cacaaaaatt cccatcctag 60

<210> 7
<211> 99
<212> ADN
<213> Glycine max

<400> 7
acatatacta cataagaagg aggtggagaa agtgtatgta accgacaaca aaaaactaat 60

aggaatatat aggatgaaga gatgagagaa ccatcacag 99

<210> 8
<211> 462
<212> ADN
<213> Glycine max

<400> 8
accaatggca cacaaaaatt cccatcctag tttttggagt aattaatgaa ctagcaatta 60

tataataagc tctgtatctg ttatattctg cattaatttt gttgaataaa aaacactgta 120

aattaattgg tcatgtgtta tattttgcac actaattttt tttttaaaaa aggtgggaga 180

gcgtgatatt tttagttgtc cagaaaataa agattgaaaa atttgaatgt atttggcacg 240

tgggatactt taaaaattag aaggcacctt attgtttact tcgatcggag aaaaataata 300

aaatccttta tatgttaatt tatttcaatt tgtatgtctg tagtaggaat attaaagtag 360

acatttatca ttaatctcat tattagtctt tccttttgta gaatctcgtt aattttatta 420

actaactttt aaataactct ctagaggaat gaacaaaata at 462

<210> 9
<211> 7914
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de Avena sativa optimizada para la expresión en Glycine max

<400> 9

aattgacgct tagacaactt aataacacat tgcggatacg gccatgctgg ccgcccgggc 60

atggtaccca attcccgatc tagtaacata gatgacaccg cgcgcgataa tttatcctag 120

tttgcgcgct atattttgtt ttctatcgcg tattaaatgt ataattgcgg gactctaatc 180

ataaaaaccc atctcataaa taacgtcatg cattacatgt taattattac atgcttaacg 240

taattcaaca gaaattatat gataatcatc gcaagaccgg caacaggatt caatcttaag 300

aaactttatt gccaaatgtt tgaacgatcg gggaaattcg gggatctaga gctcgactca 360

tatctgggta actggcctaa ctggccttgg aggagctggc aactcaaaat ccctttgcca 420

aaaaccaaca tcatgccatc caccatgctt gtatccagct gcgcgcaatg taccccgggc 480

tgtgtatccc aaagcctcat gcaacctaac agatggatcg tttggaaggc ctataacagc 540

aaccacagac ttaaaacctt gcgcctccat agacttaagc aaatgtgtgt acaatgtaga 600

tcctaggccc aacctttgat gcctatgtga cacgtaaaca gtactctcaa ctgtccaatc 660

gtaagcgttc ctagccttcc agggcccagc gtaagcaata ccagccacaa caccctcaac 720

ctcagcaacc aaccaagggt atctatcttg caacctctct agatcatcaa tccactcttg 780

tggtgtttgt ggctctgtcc taaagttcac tgtagacgtc tcaatgtaat ggttaacgat 840

atcacaaacc gcggccatat cagctgctgt agctggccta atctcaactg gtctcctctc 900

cggagacatg gtgggatcct gtaattgtaa atagtaattg taatgttgtt tgttgtttgt 960

tgttgttggt aattgttgta aaaatactcg agggtttatg tttttacaaa cgactccaac 1020

aaagtatcaa gttttattca aacagaatga tacagattta aatatcgggt tttatacaaa 1080

ccatatgata tttatcaatt cagtgatcct atacggacgg tggagacaaa aatcatcaag 1140

aatcatcttt gagatgagaa agcttagctc ttacctgttt tcgtcgtctt ggcttttctt 1200

cttcctggcc acctgcctga atacttcgcc gccttgacta cttctaggct acttgctctc 1260

tttctctctc taggactatc tctctgagat tttgctccct taacaatgag ggaggggcta 1320

agtatttata gactgacggg tgagtggaca tttcccaaac tacccttact tatttcgtaa 1380

gcccttacgt cattgctcca ttattggagt ctgaagatgc cttcacatgg tggaccccca 1440

cctgtcggcc acgaatctta tttgttcgtc agaaaaagcc aaaccgactg cacagttttt 1500

ccatcgtggt agggaccact ttggtattga ttaaaggcag ccgacctaac ctttgtcaga 1560

cgcattattt cacgcgtttt cttttacaga ttccatcttc atttgtggga cagtatgtct 1620

gccactttgt ctgccagtaa ttaaacgcgg tccggatcta gtaacataga tgacaccgcg 1680

cgcgataatt tatcctagtt tgcgcgctat attttgtttt ctatcgcgta ttaaatgtat 1740

aattgcggga ctctaatcat aaaaacccat ctcataaata acgtcatgca ttacatgtta 1800

attattacat gcttaacgta attcaacaga aattatatga taatcatcgc aagaccggca 1860

acaggattca atcttaagaa actttattgc caaatgtttg aacgatctgc aggtcgaccc 1920

atggcgccga tatcactagt tcagatctgg gtaactggcc taactggcct tggaggagct 1980

ggcaactcaa aatccctttg ccaaaaacca acatcatgcc atccaccatg cttgtatcca 2040

gctgcgcgca atgtaccccg ggctgtgtat cccaaagcct catgcaacct aacagatgga 2100

tcgtttggaa ggcctataac agcaaccaca gacttaaaac cttgcgcctc catagactta 2160

agcaaatgtg tgtacaatgt ggatcctagg cccaaccttt gatgcctatg tgacacgtaa 2220

acagtactct caactgtcca atcgtaagcg ttcctagcct tccagggccc agcgtaagca 2280

ataccagcca caacaccctc aacctcagca accaaccaag ggtatctatc ttgcaacctc 2340

tctagatcat caatccactc ttgtggtgtt tgtggctctg tcctaaagtt cactgtagac 2400

gtctcaatgt aatggttaac gatatcacaa accgcggcca tatcagctgc tgtagctggc 2460

ctaatctcaa ctggtctcct ctccggagac atggtggact agtgatttca gcgtgtcctc 2520

tccaaatgaa atgaacttcc ttatatagag gaagggtctt gcgaaggata gtgggattgt 2580

gcgtcatccc ttacgtcagt ggagatatca catcaatcca cttgctttga agacgtggtt 2640

ggaacgtctt ctttttccac gatgctcctc gtgggtgggg gtccatcttt gggaccactg 2700

tcggcagagg catcttcaac gatggccttt cctttatcgc aatgatggca tttgtaggag 2760

ccaccttcct tttccactat cttcacaata aagtgacaga tagctgggca atggaacctt 2820

tgctgctgca catggacttg ctgtcagatc tgttggagct taatatccgg aaacctcctc 2880

ggattccatt gcccagctat ctgtcacttt attgtgaaga tagtggaaaa ggaaggtggc 2940

tcctacaaat gccatcattg cgataaagga aaggctatcg ttgaagatgc ctctgccgac 3000

agtggtccca aagatggacc cccacccacg aggagcatcg tggaaaaaga agacgttcca 3060

accacgtctt caaagcaagt ggattgatgt gatatctcca ctgacgtaag ggatgacgaa 3120

caatcccact atccttctgc aggtcgactc tagaggatcc tataaatagg aagttcattt 3180

catttggaga ggaaacctcg agtattttta caacaattac caacaacaac aaacaacaaa 3240

caacattaca attactattt acaattacac atatgcctcc aacaccagct actgctactg 3300

gagctgctgc tgctgccgtt acaccagaac atgctgcaag gtcattccct agagttgttc 3360

gcgttaaccc taggtctgac agattccctg ttctgtcctt ccatcatgtg gagctttggt 3420

gtgctgatgc agctagtgct gctggtcgtt tcagctttgc acttggagca ccacttgctg 3480

caagatctga tctgtctaca gggaactcag cacatgcttc tctcctactt cgatctggag 3540

cattagcctt cctttttacc gctccttatg ctccacctcc acaagaagct gcaactgctg 3600

caactgcttc cattccctcc ttttcagcag atgctgcaag aacctttgct gctgcacatg 3660

gacttgctgt cagatctgtt ggagttaggg ttgctgatgc agctgaagca tttcgcgtta 3720

gtgttgctgg aggagcaaga cctgcttttg ctccagcaga tcttggtcac ggatttggac 3780

ttgctgaagt ggagctgtat ggagatgtgg ttctgagatt cgtgagctat cctgacgaaa 3840

ctgacctacc atttctccca ggattcgaga gggtttcaag tccaggtgca gttgactacg 3900

gtttgactcg ctttgaccac gttgttggaa acgttccaga aatggctcct gtcatcgact 3960

acatgaaggg attccttggt ttccacgagt tcgctgaatt cacagcagag gatgttggaa 4020

ccacagaatc tggactgaac agtgtggttc tagccaacaa cagtgaagct gttcttctgc 4080

cattgaacga gcctgttcat ggaaccaaga gacgatctca gatccaaacc tacctcgaat 4140

accatggtgg accaggagtt caacacatcg cattggcttc taacgatgtg cttcgaactc 4200

tcagggaaat gagagccaga actccaatgg gagggttcga atttatggct cctccacaag 4260

ccaagtacta tgaaggagtc cgtagaatcg ctggagatgt cttgtcagag gaacagatca 4320

aggagtgtca agaactgggt gttctcgttg atcgagacga tcaaggtgtg ctactccaga 4380

tcttcaccaa accagttggt gatcgtccca ctttttcct cgaaatgatt cagcgaatag 4440

gatgcatgga gaaggatgaa gttgggcaag agtaccagaa aggtggatgt ggtgggtttg 4500

gaaaggggaa cttttccgag ttgttcaagt ccatagagga ctacgagaag tcactggaag 4560

tcaagcagtc tgtcgttgct cagaagagct aagagctctt catatgacga tcgttcaaac 4620

atttggcaat aaagtttctt aagattgaat cctgttgccg gtcttgcgat gattatcata 4680

taatttctgt tgaattacgt taagcatgta ataattaaca tgtaatgcat gacgttattt 4740

atgagatggg tttttatgat tagagtcccg caattataca tttaatacgc gatagaaaac 4800

aaaatatagc gcgcaaacta ggataaatta tcgcgcgcgg tgtcatctat gttactagat 4860

cgcggaccca gtcaaagatt caaatagagg acctaacaga actcgccgta aagactggcg 4920

aacagttcat acagagtctc ttacgactca atgacaagaa gaaaatcttc gtcaacatgg 4980

tggagcacga cacgcttgtc tactccaaaa atatcaaaga tacagtctca gaagaccaaa 5040

gggcaattga gacttttcaa caaagatgac ttttcaacaa agggtaatat ccggaaacct 5100

cctcggattc cattgcccag ctatctgtca ctttattgtg aagatagtgg aaaaggaagg 5160

tggctcctac aaatgccatc attgcgataa aggaaaggcc atcgttgaag atgcctctgc 5220

cgacagtggt cccaaagatg gacccccacc cacgaggagc atcgtggaaa aagaagacgt 5280

tccaaccacg tcttcaaagc aagtggattg atgtgatatc tccactgacg taagggatga 5340

cgcacaatcc cactatcctt cgcaagaccc ttcctctata taaggaagtt catttcattt 5400

ggagaggaca cgctgaaatc actagtccac catgtctccg gagaggagac cagttgagat 5460

taggccagct acagcagctg atatggccgc ggtttgtgat atcgttaacc attacattga 5520

gacgtctaca gtgaacttta ggacagagcc acaaacacca caagagtgga ttgatgatct 5580

agagaggttg caagatagat acccttggtt ggttgctgag gttgagggtg ttgtggctgg 5640

tattgcttac gctgggccct ggaaggctag gaacgcttac gattggacag ttgagagtac 5700

tgtttacgtg tcacataggc atcaaaggtt gggcctagga tccacattgt acacacattt 5760

gcttaagtct atggaggcgc aaggttttaa gtctgtggtt gctgttatag gccttccaaa 5820

cgatccatct gttaggttgc atgaggcttt gggatacaca gcccggggta cattgcgcgc 5880

agctggatac aagcatggtg gatggcatga tgttggtttt tggcaaaggg attttgagtt 5940

gccagctcct ccaaggccag ttaggccagt tacccagatc tgaactagtg atatcggcgc 6000

catgggtcga cctgcagatc gttcaaacat ttggcaataa agtttcttaa gattgaatcc 6060

tgttgccggt cttgcgatga ttatcatata atttctgttg aattacgtta agcatgtaat 6120

aattaacatg taatgcatga cgttatttat gagatgggtt tttatgatta gagtcccgca 6180

attatacatt taatacgcga tagaaaacaa aatatagcgc gcaaactagg ataaattatc 6240

gcgcgcggtg tcatctatgt tactagatcc ggaccgcgtt taattactgg cagacaaagt 6300

ggcagacata ctgtcccaca aatgaagatg gaatctgtaa aagaaaacgc gtgaaataat 6360

gcgtctgaca aaggttaggt cggctgcctt taatcaatac caaagtggtc cctaccacga 6420

tggaaaaact gtgcagtcgg tttggctttt tctgacgaac aaataagatt cgtggccgac 6480

aggtgggggt ccaccatgtg aaggcatctt cagactccaa taatggagca atgacgtaag 6540

ggcttacgaa ataagtaagg gtagtttggg aaatgtccac tcacccgtca gtctataaat 6600

acttagcccc tccctcattg ttaagggagc aaaatctcag agagatagtc ctagagagag 6660

aaagagagca agtagcctag aagtagtcaa ggcggcgaag tattcaggca ggtggccagg 6720

aagaagaaaa gccaagacga cgaaaacagg taagagctaa gctttctcat ctcaaagatg 6780

attcttgatg atttttgtct ccaccgtccg tataggatca ctgaattgat aaatatcata 6840

tggtttgtat aaaacccgat atttaaatct gtatcattct gtttgaataa aacttgatac 6900

tttgttggag tcgtttgtaa aaacataaac cctcgagtat ttttacaaca attaccaaca 6960

acaacaaaca acaaacaaca ttacaattac tatttacaat tacaggatcc caccatgtct 7020

ccggagagga gaccagttga gattaggcca gctacagcag ctgatatggc cgcggtttgt 7080

gatatcgtta accattacat tgagacgtct acagtgaact ttaggacaga gccacaaaca 7140

ccacaagagt ggattgatga tctagagagg ttgcaagata gatacccttg gttggttgct 7200

gaggttgagg gtgttgtggc tggtattgct tacgctgggc cctggaaggc taggaacgct 7260

tacgattgga cagttgagag tactgtttac gtgtcacata ggcatcaaag gttgggccta 7320

ggatctacat tgtacacaca tttgcttaag tctatggagg cgcaaggttt taagtctgtg 7380

gttgctgtta taggccttcc aaacgatcca tctgttaggt tgcatgaggc tttgggatac 7440

acagcccggg gtacattgcg cgcagctgga tacaagcatg gtggatggca tgatgttggt 7500

ttttggcaaa gggattttga gttgccagct cctccaaggc cagttaggcc agttacccag 7560

atatgagtcg agctctagat ccccgaattt ccccgatcgt tcaaacattt ggcaataaag 7620

tttcttaaga ttgaatcctg ttgccggtct tgcgatgatt atcatataat ttctgttgaa 7680

ttacgttaag catgtaataa ttaacatgta atgcatgacg ttatttatga gatgggtttt 7740

tatgattaga gtcccgcaat tatacattta atacgcgata gaaaacaaaa tatagcgcgc 7800

aaactaggat aaattatcgc gcgcggtgtc atctatgtta ctagatcggg aattgggtac 7860

catgcccggg cggccagcat ggccgtatcc gcaatgtgtt attaagttgt ctaa 7914

<210> 10
<211> 9206
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Derivada de Glycine max y Avena sativa

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(821)
<223> región genómica denominada LB2

<220>
<221> misc_feature
<222> (822)..(8735)
<223> ADN insertado heterólogo

<220>
<221> misc_feature
<222> (8736)..(9206)
<223> secuencia flanqueante genómica denominada LB1

<400> 10

tgatcttaaa aattcaaagt ccacctaatt tgacaaggaa agcaccaggt agcgtttcat 60

ctaatgtttt ctccatatag ttgactattt acccaagttc atgacgatgt caacaatgca 120

agttgtacga ctaaacttct tccttgtgca ataaaatgcc atctattact gtcacaaagg 180

aagtgtttta ctgtcttata agttagtttg attacataag ttttatttag taaacgagct 240

tattaattta ttgcatatta ttaggtggtc caaaatagaa tagaggatcc agagttatct 300

aataatttct tatatgaatg ggtctagatt taacaaaaat gaatcaaaat catttatgta 360

tgattattct actttatata tatgaggaaa cttaaaaggt tatttttta ttattatgat 420

attgatatag aatatttatc aatttttg aaaattattt tttgatataa aatctgattg 480

accattttta ataaattttt tccttacaat gacgtttttt tatatacaag atgaatttaa 540

aattttaatt atggggatcg aatttaaata tcgattaatg acttaatgat actctaagct 600

aatttagttt tacataattg agaatgaggc accaacattc ttgtggtaat attaaatttt 660

ctgttgactt ttttttacgt aaatgatact tgattagaag atgactaata aatgaaggct 720

ttacatatac tacataagaa ggaggtggag aaagtgtatg taaccgacaa caaaaaacta 780

ataggaatat ataggatgaa gagatgagag aaccatcaca gaattgacgc ttagacaact 840

taataacaca ttgcggatac ggccatgctg gccgcccggg catggtaccc aattcccgat 900

ctagtaacat agatgacacc gcgcgcgata atttatccta gtttgcgcgc tatattttgt 960

tttctatcgc gtattaaatg tataattgcg ggactctaat cataaaaacc catctcataa 1020

ataacgtcat gcattacatg ttaattatta catgcttaac gtaattcaac agaaattata 1080

tgataatcat cgcaagaccg gcaacaggat tcaatcttaa gaaactttat tgccaaatgt 1140

ttgaacgatc ggggaaattc ggggatctag agctcgactc atatctgggt aactggccta 1200

actggccttg gaggagctgg caactcaaaa tccctttgcc aaaaaccaac atcatgccat 1260

ccaccatgct tgtatccagc tgcgcgcaat gtaccccggg ctgtgtatcc caaagcctca 1320

tgcaacctaa cagatggatc gtttggaagg cctataacag caaccacaga cttaaaacct 1380

tgcgcctcca tagacttaag caaatgtgtg tacaatgtag atcctaggcc caacctttga 1440

tgcctatgtg acacgtaaac agtactctca actgtccaat cgtaagcgtt cctagccttc 1500

cagggcccag cgtaagcaat accagccaca acaccctcaa cctcagcaac caaccaaggg 1560

tatctatctt gcaacctctc tagatcatca atccactctt gtggtgtttg tggctctgtc 1620

ctaaagttca ctgtagacgt ctcaatgtaa tggttaacga tatcacaaac cgcggccata 1680

tcagctgctg tagctggcct aatctcaact ggtctcctct ccggagacat ggtgggatcc 1740

tgtaattgta aatagtaatt gtaatgttgt ttgttgtttg ttgttgttgg taattgttgt 1800

aaaaatactc gagggtttat gtttttacaa acgactccaa caaagtatca agttttattc 1860

aaacagaatg atacagattt aaatatcggg ttttatacaa accatatgat atttatcaat 1920

tcagtgatcc tatacggacg gtggagacaa aaatcatcaa gaatcatctt tgagatgaga 1980

aagcttagct cttacctgtt ttcgtcgtct tggcttttct tcttcctggc cacctgcctg 2040

aatacttcgc cgccttgact acttctaggc tacttgctct ctttctctct ctaggactat 2100

ctctctgaga ttttgctccc ttaacaatga gggaggggct aagtatttat agactgacgg 2160

gtgagtggac atttcccaaa ctacccttac ttatttcgta agcccttacg tcattgctcc 2220

attattggag tctgaagatg ccttcacatg gtggaccccc acctgtcggc cacgaatctt 2280

atttgttcgt cagaaaaagc caaaccgact gcacagtttt tccatcgtgg tagggaccac 2340

tttggtattg attaaaggca gccgacctaa cctttgtcag acgcattatt tcacgcgttt 2400

tcttttacag attccatctt catttgtggg acagtatgtc tgccactttg tctgccagta 2460

attaaacgcg gtccggatct agtaacatag atgacaccgc gcgcgataat ttatcctagt 2520

ttgcgcgcta tattttgttt tctatcgcgt attaaatgta taattgcggg actctaatca 2580

taaaaaccca tctcataaat aacgtcatgc attacatgtt aattattaca tgcttaacgt 2640

aattcaacag aaattatatg ataatcatcg caagaccggc aacaggattc aatcttaaga 2700

aactttattg ccaaatgttt gaacgatctg caggtcgacc catggcgccg atatcactag 2760

ttcagatctg ggtaactggc ctaactggcc ttggaggagc tggcaactca aaatcccttt 2820

gccaaaaacc aacatcatgc catccaccat gcttgtatcc agctgcgcgc aatgtacccc 2880

gggctgtgta tcccaaagcc tcatgcaacc taacagatgg atcgtttgga aggcctataa 2940

cagcaaccac agacttaaaa ccttgcgcct ccatagactt aagcaaatgt gtgtacaatg 3000

tggatcctag gcccaacctt tgatgcctat gtgacacgta aacagtactc tcaactgtcc 3060

aatcgtaagc gttcctagcc ttccagggcc cagcgtaagc aataccagcc acaacaccct 3120

caacctcagc aaccaaccaa gggtatctat cttgcaacct ctctagatca tcaatccact 3180

cttgtggtgt ttgtggctct gtcctaaagt tcactgtaga cgtctcaatg taatggttaa 3240

cgatatcaca aaccgcggcc atatcagctg ctgtagctgg cctaatctca actggtctcc 3300

tctccggaga catggtggac tagtgatttc agcgtgtcct ctccaaatga aatgaacttc 3360

cttatataga ggaagggtct tgcgaaggat agtgggattg tgcgtcatcc cttacgtcag 3420

tggagatatc acatcaatcc acttgctttg aagacgtggt tggaacgtct tctttttcca 3480

cgatgctcct cgtgggtggg ggtccatctt tgggaccact gtcggcagag gcatcttcaa 3540

cgatggcctt tcctttatcg caatgatggc atttgtagga gccaccttcc ttttccacta 3600

tcttcacaat aaagtgacag atagctgggc aatggaacct ttgctgctgc acatggactt 3660

gctgtcagat ctgttggagc ttaatatccg gaaacctcct cggattccat tgcccagcta 3720

tctgtcactt tattgtgaag atagtggaaa aggaaggtgg ctcctacaaa tgccatcatt 3780

gcgataaagg aaaggctatc gttgaagatg cctctgccga cagtggtccc aaagatggac 3840

ccccacccac gaggagcatc gtggaaaaag aagacgttcc aaccacgtct tcaaagcaag 3900

tggattgatg tgatatctcc actgacgtaa gggatgacga acaatcccac tatccttctg 3960

caggtcgact ctagaggatc ctataaatag gaagttcatt tcatttggag aggaaacctc 4020

gagtattttt acaacaatta ccaacaacaa caaacaacaa acaacattac aattactatt 4080

tacaattaca catatgcctc caacaccagc tactgctact ggagctgctg ctgctgccgt 4140

tacaccagaa catgctgcaa ggtcattccc tagagttgtt cgcgttaacc ctaggtctga 4200

cagattccct gttctgtcct tccatcatgt ggagctttgg tgtgctgatg cagctagtgc 4260

tgctggtcgt ttcagctttg cacttggagc accacttgct gcaagatctg atctgtctac 4320

agggaactca gcacatgctt ctctcctact tcgatctgga gcattagcct tccttttac 4380

cgctccttat gctccacctc cacaagaagc tgcaactgct gcaactgctt ccattccctc 4440

cttttcagca gatgctgcaa gaacctttgc tgctgcacat ggacttgctg tcagatctgt 4500

tggagttagg gttgctgatg cagctgaagc atttcgcgtt agtgttgctg gaggagcaag 4560

acctgctttt gctccagcag atcttggtca cggatttgga cttgctgaag tggagctgta 4620

tggagatgtg gttctgagat tcgtgagcta tcctgacgaa actgacctac catttctccc 4680

aggattcgag agggtttcaa gtccaggtgc agttgactac ggtttgactc gctttgacca 4740

cgttgttgga aacgttccag aaatggctcc tgtcatcgac tacatgaagg gattccttgg 4800

tttccacgag ttcgctgaat tcacagcaga ggatgttgga accacagaat ctggactgaa 4860

cagtgtggtt ctagccaaca acagtgaagc tgttcttctg ccattgaacg agcctgttca 4920

tggaaccaag agacgatctc agatccaaac ctacctcgaa taccatggtg gaccaggagt 4980

tcaacacatc gcattggctt ctaacgatgt gcttcgaact ctcagggaaa tgagagccag 5040

aactccaatg ggagggttcg aatttatggc tcctccacaa gccaagtact atgaaggagt 5100

ccgtagaatc gctggagatg tcttgtcaga ggaacagatc aaggagtgtc aagaactggg 5160

tgttctcgtt gatcgagacg atcaaggtgt gctactccag atcttcacca aaccagttgg 5220

tgatcgtccc actttttcc tcgaaatgat tcagcgaata ggatgcatgg agaaggatga 5280

agttgggcaa gagtaccaga aaggtggatg tggtgggttt ggaaagggga acttttccga 5340

gttgttcaag tccatagagg actacgagaa gtcactggaa gtcaagcagt ctgtcgttgc 5400

tcagaagagc taagagctct tcatatgacg atcgttcaaa catttggcaa taaagtttct 5460

taagattgaa tcctgttgcc ggtcttgcga tgattatcat ataatttctg ttgaattacg 5520

ttaagcatgt aataattaac atgtaatgca tgacgttatt tatgagatgg gtttttatga 5580

ttagagtccc gcaattatac atttaatacg cgatagaaaa caaaatatag cgcgcaaact 5640

aggataaatt atcgcgcgcg gtgtcatcta tgttactaga tcgcggaccc agtcaaagat 5700

tcaaatagag gacctaacag aactcgccgt aaagactggc gaacagttca tacagagtct 5760

cttacgactc aatgacaaga agaaaatctt cgtcaacatg gtggagcacg acacgcttgt 5820

ctactccaaa aatatcaaag atacagtctc agaagaccaa agggcaattg agacttttca 5880

acaaagatga cttttcaaca aagggtaata tccggaaacc tcctcggatt ccattgccca 5940

gctatctgtc actttattgt gaagatagtg gaaaaggaag gtggctccta caaatgccat 6000

cattgcgata aaggaaaggc catcgttgaa gatgcctctg ccgacagtgg tcccaaagat 6060

ggacccccac ccacgaggag catcgtggaa aaagaagacg ttccaaccac gtcttcaaag 6120

caagtggatt gatgtgatat ctccactgac gtaagggatg acgcacaatc ccactatcct 6180

tcgcaagacc cttcctctat ataaggaagt tcatttcatt tggagaggac acgctgaaat 6240

cactagtcca ccatgtctcc ggagaggaga ccagttgaga ttaggccagc tacagcagct 6300

gatatggccg cggtttgtga tatcgttaac cattacattg agacgtctac agtgaacttt 6360

aggacagagc cacaaacacc acaagagtgg attgatgatc tagagaggtt gcaagataga 6420

taccttggt tggttgctga ggttgagggt gttgtggctg gtattgctta cgctgggccc 6480

tggaaggcta ggaacgctta cgattggaca gttgagagta ctgtttacgt gtcacatagg 6540

catcaaaggt tgggcctagg atccacattg tacacacatt tgcttaagtc tatggaggcg 6600

caaggtttta agtctgtggt tgctgttata ggccttccaa acgatccatc tgttaggttg 6660

catgaggctt tgggatacac agcccggggt acattgcgcg cagctggata caagcatggt 6720

ggatggcatg atgttggttt ttggcaaagg gattttgagt tgccagctcc tccaaggcca 6780

gttaggccag ttacccagat ctgaactagt gatatcggcg ccatgggtcg acctgcagat 6840

cgttcaaaca tttggcaata aagtttctta agattgaatc ctgttgccgg tcttgcgatg 6900

attatcatat aatttctgtt gaattacgtt aagcatgtaa taattaacat gtaatgcatg 6960

acgttattta tgagatgggt ttttatgatt agagtcccgc aattatacat ttaatacgcg 7020

atagaaaaca aaatatagcg cgcaaactag gataaattat cgcgcgcggt gtcatctatg 7080

ttactagatc cggaccgcgt ttaattactg gcagacaaag tggcagacat actgtcccac 7140

aaatgaagat ggaatctgta aaagaaaacg cgtgaaataa tgcgtctgac aaaggttagg 7200

tcggctgcct ttaatcaata ccaaagtggt ccctaccacg atggaaaaac tgtgcagtcg 7260

gtttggcttt ttctgacgaa caaataagat tcgtggccga caggtggggg tccaccatgt 7320

gaaggcatct tcagactcca ataatggagc aatgacgtaa gggcttacga aataagtaag 7380

ggtagtttgg gaaatgtcca ctcacccgtc agtctataaa tacttagccc ctccctcatt 7440

gttaagggag caaaatctca gagagatagt cctagagaga gaaagagagc aagtagccta 7500

gaagtagtca aggcggcgaa gtattcaggc aggtggccag gaagaagaaa agccaagacg 7560

acgaaaacag gtaagagcta agctttctca tctcaaagat gattcttgat gatttttgtc 7620

tccaccgtcc gtataggatc actgaattga taaatatcat atggtttgta taaaacccga 7680

tatttaaatc tgtatcattc tgtttgaata aaacttgata ctttgttgga gtcgtttgta 7740

aaaacataaa ccctcgagta tttttacaac aattaccaac aacaacaaac aacaaacaac 7800

attacaatta ctatttacaa ttacaggatc ccaccatgtc tccggagagg agaccagttg 7860

agattaggcc agctacagca gctgatatgg ccgcggtttg tgatatcgtt aaccattaca 7920

ttgagacgtc tacagtgaac tttaggacag agccacaaac accacaagag tggattgatg 7980

atctagagag gttgcaagat agataccctt ggttggttgc tgaggttgag ggtgttgtgg 8040

ctggtattgc ttacgctggg ccctggaagg ctaggaacgc ttacgattgg acagttgaga 8100

gtactgttta cgtgtcacat aggcatcaaa ggttgggcct aggatctaca ttgtacacac 8160

atttgcttaa gtctatggag gcgcaaggtt ttaagtctgt ggttgctgtt ataggccttc 8220

caaacgatcc atctgttagg ttgcatgagg ctttgggata cacagcccgg ggtacattgc 8280

gcgcagctgg atacaagcat ggtggatggc atgatgttgg tttttggcaa agggattttg 8340

agttgccagc tcctccaagg ccagttaggc cagttaccca gatatgagtc gagctctaga 8400

tccccgaatt tccccgatcg ttcaaacatt tggcaataaa gtttcttaag attgaatcct 8460

gttgccggtc ttgcgatgat tatcatataa tttctgttga attacgttaa gcatgtaata 8520

attaacatgt aatgcatgac gttatttatg agatgggttt ttatgattag agtcccgcaa 8580

ttatacattt aatacgcgat agaaaacaaa atatagcgcg caaactagga taaattatcg 8640

cgcgcggtgt catctatgtt actagatcgg gaattgggta ccatgcccgg gcggccagca 8700

tggccgtatc cgcaatgtgt tattaagttg tctaaaccct aaaccaatgg cacacaaaaa 8760

ttcccatcct agtttttgga gtaattaatg aactagcaat tatataataa gctctgtatc 8820

tgttatattc tgcattaatt ttgttgaata aaaaacactg taaattaatt ggtcatgtgt 8880

tatattttgc acactaattt tttttttaaa aaaggtggga gagcgtgata tttttagttg 8940

tccagaaaat aaagattgaa aaatttgaat gtatttggca cgtgggatac tttaaaaatt 9000

agaaggcacc ttattgttta cttcgatcgg agaaaaataa taaaatcctt tatatgttaa 9060

tttatttcaa tttgtatgtc tgtagtagga atattaaagt agacatttat cattaatctc 9120

attattagtc tttccttttg tagaatctcg ttaattttat taactaactt ttaaataact 9180

ctctagagga atggaacaaa ataata 9206

<210> 11
<211> 14
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 11
cgggcggcca gcat 14

<210> 12
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 12
gtgccattgg tttagggttt agac 24

<210> 13
<211> 19
<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sonda para el ensayo TAQMAN

<400> 13
atccgcaatg tgttattaa 19

<210> 14
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 14
gccgtatccg caatgtgtta 20

<210> 15
<211> 25
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 15
ggatgaagag atgagagaac catca 25

<210> 16
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sonda para el ensayo TAQMAN

<400> 16

taagttgtct aagcgtcaat t 21

<210> 17
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 17
caaggccagt taggccagtt a 21

<210> 18
<211> 26
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 18
attaacgaga ttctacaaaa ggaaag 26

<210> 19
<211> 28
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 19
ggacaactaa aaatatcacg ctctccca 28

<210> 20
<211> 26
<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 20
actacataag aaggaggtgg agaaag 26

<210> 21
<211> 29
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 21
gaggtggaga aagtgtatgt aaccgacaa 29

<210> 22
<211> 66
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Producto de PCR derivado de Glycine max y Avena sativa

<400> 22
cgggcggcca gcatggccgt atccgcaatg tgttattaag ttgtctaaac cctaaaccaa 60

tggcac 66

<210> 23
<211> 70
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Producto de PCR derivado de Glycine max y Avena sativa

<400> 23
ggatgaagag atgagagaac catcacagaa ttgacgctta gacaacttaa taacacattg 60

cggatacggc 70

<210> 24
<211> 217
<212> ADN
<213> Glycine max

<400> 24
ttacatatac tacataagaa ggaggtggag aaagtgtatg taaccgacaa caaaaaacta 60

ataggaatat ataggatgaa gagatgagag aaccatcaca gattggacgg tgggggacca 120

atggcacaca aaaattccca tcctagtttt tggagtaatt aatgaactag caattatata 180

ataagctctg tatctgttat attctgcatt aattttg 217

<210> 25
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 25
ttttgtggtc gtcactgcgt t 21

<210> 26
<211> 40
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 26
caggatatat tgtggtgtaa acaaattgac gcttagacaa 40

<210> 27
<211> 35
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 27
gagtcccgca attatacatt taatacgcga tagaa 35

<210> 28
<211> 29
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 28
ggccagcatg gccgtatccg caatgtgtt 29

REIVINDICACIONES

1. Una molécula de ácido nucleico aislada diagnóstica del evento SYHT0H2 de la soja seleccionada del grupo que consiste en: a) una molécula de ácido nucleico que comprende el polinucleótido de la SEQ ID NO: 1 o de la SEQ ID NO: 2; b) una molécula de ácido nucleico que comprende el polinucleótido de la SEQ ID NO: 3 o de la SEQ ID NO: 4; c) una molécula de ácido nucleico que comprende el polinucleótido de la SEQ ID NO: 5 o de la SEQ ID NO: 6; y d) una molécula de ácido nucleico que comprende el polinucleótido de la SEQ ID NO: 10, en donde el polinucleótido codifica un polipéptido que tiene la actividad enzimática de una enzima hidroxifenil-piruvato-dioxigenasa.

2. Una planta de soja o parte de esta, en donde la planta o parte de la planta comprende la secuencia de polinucleótidos de la SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2, y en donde dicha planta o dicha parte de la planta produce un amplicón diagnóstico del evento SYHT0H2.

3. Una semilla de una planta de soja de acuerdo con la reivindicación 2 que comprende el evento SYHT0H2, estando un ejemplo de dicha semilla depositada en el ATCC con el Nro. de Acceso PTA-11226, en donde el evento SYHT0H2 se caracteriza por la presencia de uniones genómicas/de transgén que tienen una secuencia de polinucleótidos que consiste en la SEQ ID NO: 1 y la SEQ ID NO: 2.

4. La semilla de una planta de soja de acuerdo con la reivindicación 3 que comprende una o más regiones adicionales que codifican un polipéptido capaz de proporcionar a la planta resistencia o tolerancia a uno o más herbicidas adicionales o uno o más insectos, infecciones fúngicas, bacterianas y/o virales.

5. La semilla de una planta de soja de acuerdo con la reivindicación 4, en donde dicha región o regiones adicionales codifican un polipéptido capaz de proporcionar a la planta resistencia o tolerancia a uno o más herbicidas adicionales seleccionados del grupo que consiste en: glifosato, glufosinato, dicamba, 2,4-D, herbicidas de fenoxi auxina, herbicidas de PPO, herbicidas de ariloxifenoxipropionato, imidazolinona, sulfonil urea, ametrina, herbicidas de triazina y metribuzina.

6. La semilla de una planta de soja de acuerdo con la reivindicación 4 o 5, en donde dicha región o regiones adicionales codifican un polipéptido capaz de proporcionar a la planta resistencia o tolerancia a uno o más herbicidas adicionales, seleccionándose el polipéptido del grupo que consiste en: una 5-enol-piruvil-shiquimato-3-fosfato sintetasa (EPSPS) tolerante a glifosato, glifosato N-acetil transferasa (GAT), 4-hidroxipiruvildioxgenasa (HPPD) tolerante a herbicidas, fosfinotricina acetil transferasa (PAT), citocromo P450, glutationa S-transferasa (GST), acetil-COA-carboxilasa (ACCasa) tolerante a los herbicidas, acetolactato sintasa (ALS) tolerante a los herbicidas, protoporfirinógeno oxidasa (PPO) tolerante a los herbicidas, bromoxinil nitrilasa, fitoeno desaturasa tolerante a los herbicidas, ariloxialcanoato dioxigenasa, homogentisato solanesiltransferasa (HST) y enzimas degradadoras de dicamba.

7. La semilla de una planta de soja de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, en donde la planta es resistente a una combinación de herbicidas seleccionados del grupo que consiste en:

a. Un inhibidor de HPPD y glufosinato
b. Un inhibidor de HPPD y glifosato
c. Un inhibidor de HPPD y dicamba
d. Un inhibidor de HPPD y 2,4-D
e. Un inhibidor de HPPD y un inhibidor de ALS
f. Un inhibidor de HPPD, glifosato y glufosinato
g. Un inhibidor de HPPD, glifosato y dicamba
h. Un inhibidor de HPPD, glifosato y 2,4-D
i. Un inhibidor de HPPD, glifosato y un inhibidor de ALS
j. Un inhibidor de HPPD, glufosinato y 2,4-D
k. Un inhibidor de HPPD, glufosinato y dicamba
l. Un inhibidor de HPPD, glufosinato y un inhibidor de ALS
m. Un inhibidor de HPPD, glifosato, glufosinato y dicamba
n. Un inhibidor de HPPD, glifosato, glufosinato y 2,4-D
o. Un inhibidor de HPPD, glifosato, glufosinato, 2,4-D y un inhibidor de ALS
p. Un inhibidor de HPPD, glifosato, glufosinato, dicamba y un inhibidor de ALS
q. Un inhibidor de HPPD, glifosato, glufosinato, dicamba y 2,4-D
r. Un inhibidor de HPPD, glifosato, glufosinato, dicamba, 2,4-D y un inhibidor de ALS

en donde el inhibidor de HPPD comprende al menos un miembro que se selecciona del grupo que comprende isoxaflutol, biciclopirona, mesotriona, sulcotriona, tembotriona, topramezona, pirasulfatol y en donde el inhibidor de ALS comprende al menos un miembro que se selecciona del grupo que comprende prosulfurón, primisulfurón, triasulfurón, bensulfurón, nicosulfurón, rimsulfurón, primisulfurón, tifensulfurón, foramsulfurón, clorsulfurón, halosulfurón, imazaquín, imazapic, imazapir, imazetapir, imazamox, yodosulfurón, metsulfurón, mesosulfurón sulfosulfurón trifloxisulfurón tribenurón metilo, tiazopir, diclosulam, cloransulam-metilo, flucarbazona, flumetsulam, tiencarbazona, clorimurón-etilo.

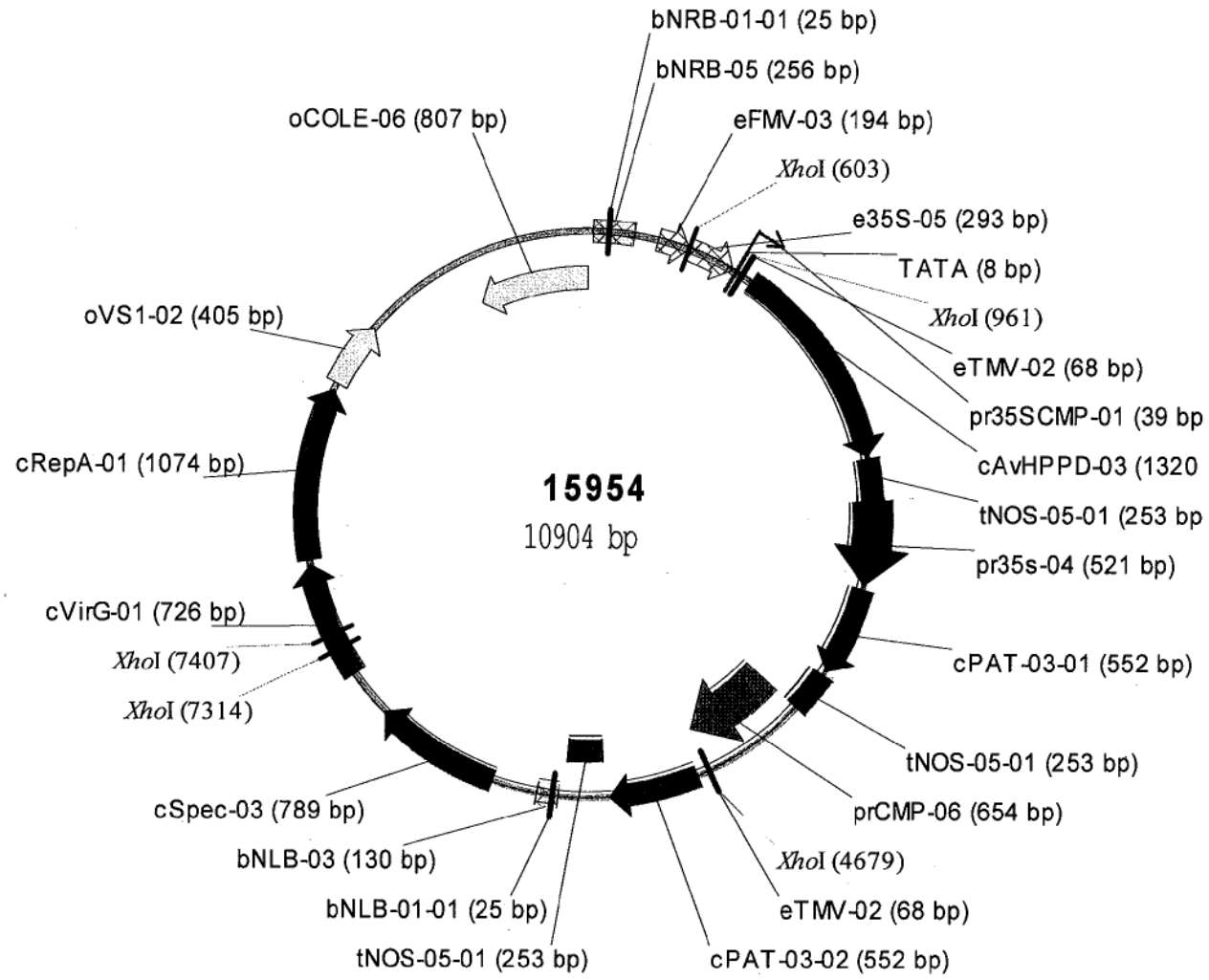
8. El uso de mesotriona para mejorar la producción de las plantas mediante la aplicación a una planta de soja que comprende el evento SYHT0H2 de una cantidad de un inhibidor de HPPD que promueve el crecimiento de la soja SYHT0H2 pulverizada, en comparación con un evento no pulverizado, para mejorar así la producción independientemente de la presión de la maleza, en donde el evento SYHT0H2 se caracteriza por la presencia de uniones genómicas/de transgén que tienen una secuencia de polinucleótidos que consiste en la SEQ ID NO:1 y la SEQ ID NO: 2.

9. Uso de una planta de soja de acuerdo con la reivindicación 2 o de una semilla de una planta de soja de acuerdo con las reivindicaciones 3 a 7 para alimento humano, de animales de cría y como materia prima para la industria.

10. Uso de una planta de soja de acuerdo con la reivindicación 2 o de una semilla de una planta de soja de acuerdo con las reivindicaciones 3 a 7, para producir un producto básico de soja.

11. El uso de la reivindicación 10, en donde el producto básico de soja es soja triturada o aceite de soja.

FIG. 1


bNRB-01-01 (25 bp)
bNRB-05 (256 bp)
oCOLE-06 (807 bp)
eFMV-03 (194 bp)
XhoI (603)
e35S-05 (293 bp)
TATA (8 bp)
XhoI (961)
oVS1-02 (405 bp)
eTMV-02 (68 bp)
pr35SCMP-01 (39 bp
cAvHPPD-03 (1320
cRepA-01 (1074 bp)
15954
10904 bp
tNOS-05-01 (253 bp
pr35s-04 (521 bp)
cVirG-01 (726 bp)
XhoI (7407)
XhoI (7314)
cPAT-03-01 (552 bp)
tNOS-05-01 (253 bp)
cSpec-03 (789 bp)
prCMP-06 (654 bp)
bNLB-03 (130 bp)
XhoI (4679)
bNLB-01-01 (25 bp)
eTMV-02 (68 bp)
tNOS-05-01 (253 bp)
cPAT-03-02 (552 bp)